BAND X NEUE FOLGE LIEFERUNG 1—3

BAND IV

MIKROCHEMIE

Internationales Archiv für deren Gesamtgebiet

Redigiert von

W. BÖTTGER, Leipzig / **F. EMICH**, Graz / **H. EPPINGER**, Freiburg i. Br. / **F. FEIGL**, Wien
H. LIEB, Graz / **F. PREGL** †, Graz / **R. STREBINGER**, Wien / **R. WASICKY**, Wien.

Unter Mitwirkung von:

E. Abderhalden-Halle, **H. V. Arny**-New York, **Y. Asahina**-Tokio, **G. Barger**-Edinburgh, **A. Benedetti-Pichler**-New York, **R. Berg**-Königsberg, **G. Bertrand**-Paris, **W. Biltz**-Hannover, **J. C. Bock**-Milwaukee, **E. M. Chamot**-Ithaca, **O. Dafert**-Wien, **G. Denigès**-Bordeaux, **J. Dubsky**-Brünn, **R. Eder**-Zürich, **S. Edlbacher**-Heidelberg, **R. Ehrenberg**-Göttingen, **G. Embden**-Frankfurt a. M., **H. v. Euler**-Stockholm, **B. Flaschenträger**-Zürich, **E. Freund**-Wien, **A. Friedrich**-Wien, **O. Fürth**-Wien, **W. Geilmann**-Hannover, **W. C. de Graaf**-Utrecht, **H. Gravestein**-Delft, **H. G. Greenish**-London, **R. Grengg**-Wien, **F. L. Hahn**-Frankfurt a. M., **F. Haurowitz**-Prag, **L. van Itallie**-Leiden, **H. Jansch**-Wien, **S. Kakiuchi**-Tokio, **J. Kendall**-New York, **J. Kisser**-Heid **G. Klein**-Heidelberg, **H. Kleinmann**-Berlin, **P. D. C. Kley**-Delft, **F. Knoop**-Tübingen, **L. Kofler**-Innsbruck, **J. M. Kolthoff**-Minneapolis, **G. Lunde**-Stavanger, **K. L. Maljaroff**-Moskau, **A. Martini**-Rosario, **A. Mayrhofer**-Wien, **L. B. Mendel**-New Haven, **A. Miolati**-Padova, **H. Molisch**-Wien, **J. M. Nelson**-New York, **J. B. Niederl**-New York, **W. Nonnenbruch**-Prag, **F. Paneth**-Königsberg, **J. K. Parnas**-Lemberg, **V. Patzelt**-Wien, **W. Pauli**-Wien, **E. Philippi**-Innsbruck, **L. Pincussen**-Berlin, **D. Prianischnikow**-Moskau, **H. Přibram**-Prag, **K. Rast**-Leverkusen, **P. Rona**-Berlin, **L. Rosenthaler**-Bern, **O. Ruff**-Breslau, **H. Schmalfuß**-Hamburg, **E. Schmitz**-Breslau, **N. Schoorl**-Utrecht, **F. Schulz**-Jena, **C. Schwarz**-Wien, **Y. Shibata**-Tokio, **H. Siedentopf**-Jena, **E. v. Skramlik**-Jena, **D. D. van Slyke**-New York, **A. Soltys**-Graz, **K. Spiro**-Basel, **E. Starkenstein**-Prag, **W. Stepp**-Breslau, **J. Stoklasa**-Prag, **K. Thomas**-Leipzig, **J. Tillmans**-Frankfurt a. M., **A. Tschermak-Seysenegg**-Prag, **A. Tschirch**-Bern, **A. Viehoever**-Philadelphia, **C. Weygand**-Leipzig, **H. Winterstein**-Breslau, **O. Wintersteiner**-New York, **F. Zaribnicky**-Wien, **R. Zeynek**-Prag.

Mikrochemie erscheint in zwangloser Folge — in Lieferungen von verschiedenem Umfange.

EMIL HAIM & CO.
WIEN UND LEIPZIG
1931

Wir empfehlen beiliegenden Prospekt besonderer Beachtung

Inhaltsverzeichnis:

pag.

Originalabhandlungen:

C. Weygand und W. Grüntzig: Ein neuer Mikroskop-Heiztisch zur Beobachtung und zur Schmelzpunktbestimmung im durchfallenden und auffallenden Licht. Mit 5 Textfiguren 1

E. Wiesenberger: Die Anwendung der elektromagnetischen Mikrowaage bei der Ausführung von Rückstandsbestimmungen und Elektrolysen nach dem Gammaverfahren. Mit 13 Textfiguren 10

H. Hetterich: Über mikrochemische Bilduntersuchung. Mit 3 Textfiguren 27

F. Hecht: Zur Analyse sehr kleiner Mengen von Morogoro-Uraniniten. Ein Beitrag zur Mikromineralanalyse. (Vorläufige Mitteilung.) 45

R. Hofmann: Über zwei neue mikrochemische Methoden zum Nachweis des Nikotins neben Pyridin und seinen Derivaten. Mit 2 Tafeln 53

E. Eigenberger: Einsatznutschen zur Filtration kleiner Substanzmengen. Mit 2 Textfiguren 57

H. Holzer: Zur Anwendung des p-Dimethylaminobenzylidenrhodanins in der Tüpfelanalyse 60

F. Feigl: Bemerkungen zur Abhandlung von Herrn H. Holzer 64

W. Füner: Elektrischer Ofen zur Mikroelementaranalyse ohne Hohlgranate. Mit einer Textfigur 66

G. Klein, H. Wenzl und N. Kemperling: Der mikrochemische Nachweis flüchtiger Fettsäuren in der Pflanze. I. Mit einer Textfigur und einer Tafel 70

K. Lindenfeld: Notiz über Mikrodestillation. Mit 2 Textfiguren 90

G. Ettisch und J. Tamchyna: Ein kapillarchemischer (Mikro-) Silbernachweis . 92

A. Režek: Ein Gefäß für das Abdampfen im Vakuum. Mit einer Textfigur 97

E. Schadendorff u. M. K. Zacherl: Eine neue Mikrobestimmung des Kohlenstoffs durch nasse Verbrennung. (II. Mitteilung.) Verbrennung von Flüssigkeiten. Mit 3 Textfiguren 99

Fr. Vetter: Mikroanalytische Methoden für das Industrielaboratorium. II. Eine Abänderung der Pregl'schen Mikro-C-, H-Bestimmung bei ausschließlicher Verwendung von Sauerstoff 109

A. Wasitzky: Die Trennung von Casein und Albumin in kleinen Milchmengen. Mit 2 Textfiguren 114

pag.

M. Haitinger, F. Feigl und A. Simon: Beiträge zur mikrochemischen Auswertung der Fluoreszenzanalyse 117

Sammelreferat: Kohlehydrate. I. Teil: Mikrobestimmung der Kohlehydrate in reinen Lösungen und in den Bestandteilen des tierischen Körpers. Von Z. Dische 129

Referate 188

Bücherschau 195

Varia 197

Tagung der Mikrochemie 201

Versammlungsbericht 202

Vorträge:

F. Emich: Über Mikrochemie. Mit 16 Textfiguren 205

H. Lieb: Entwicklung und Fortschritte der quantitativen organischen Mikroanalyse . . 230

F. Grassner: Die Anwendung der Mikrochemie in der Technik 255

M. Nießner: Mikrochemie in der Metallkunde 271

P. Krumholz: Über Tüpfelreaktionen . . 277

H. Löffler: Über Mikrogasanalyse . . . 277

J. B. Niederl: Über die quantitative mikroanalytische Bestimmung von geringsten Mengen Äthylalkohol in menschlichen und tierischen Organen und dessen Isolierung daraus in Form von Äthyljodid 285

A. Benedetti-Pichler: Die Isolierung von Äthylalkohol aus menschlichen Organen 285

R. H. Müller: Über die Anwendung photoelektrischer Methoden in der Präzisionskolorimetrie. Mit 11 Textfiguren 285

F. Feigl: Katalyse und Mikrochemie . . . 296

R. Strebinger: Anwendung der Mikroanalyse bei Untersuchungen von Edelmetalllegierungen 306

F. L. Hahn: Die heutigen Grenzen mikrochemischen Erkennens und Messens . . . 313

J. Lindner: Fortschritte in der maßanalytischen Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung im Dienste der Elementaranalyse . . 321

H. Lieb: Eine neue Mikrobestimmung des Kohlenstoffs durch nasse Verbrennung . . . 328

A. Friedrich: Über die quantitative mikroanalytische Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes. Mit 10 Textfiguren . . 329

A. Friedrich: Über die quantitative mikroanalytische Bestimmung des Stickstoffes (Dumas). Mit 2 Textfiguren 355

O. Werner: Über den Verteilungszustand gelöster Stoffe in extremer Verdünnung. Mit einer Textfigur 360

Mikrochemie-Ausstellung 369

377 Seiten, ein Bildnis, 73 Textfiguren, 3 Tafeln und zahlreiche Tabellen.

BAND X NEUE FOLGE 1931/32

BAND IV

MIKROCHEMIE

Internationales Archiv für deren Gesamtgebiet

Redigiert von

W. BÖTTGER, Leipzig / **F. EMICH**, Graz / **H. EPPINGER**, Köln a. Rh.
F. FEIGL, Wien / **H. LIEB**, Graz / **F. PREGL** †, Graz / **R. WASICKY**, Wien.

Unter Mitwirkung von:

E. Abderhalden - Halle, **H. V. Arny** - New York, **Y. Asahina** - Tokio, **G. Barger** - Edinburgh, **A. Benedetti - Pichler** - New York, **R. Berg** - Königsberg, **G. Bertrand** - Paris, **W. Biltz** - Hannover, **J. C. Bock**-Milwaukee, **E. M. Chamot**-Ithaca, **O. Dafert**-Wien, **G. Denigès**-Bordeaux, **J. Dubský**-Brünn, **R. Eder** - Zürich, **S. Edlbacher** - Heidelberg, **R. Ehrenberg** - Göttingen, **G. Embden** - Frankfurt a. M., **H. v. Euler**-Stockholm, **B. Flaschenträger**-Zürich, **E. Freund**-Wien, **A. Friedrich**-Wien, **O. Fürth**-Wien, **W. Geilmann** - Hannover, **W. C. de Graaf** - Utrecht, **H. Gravestein** - Delft, **H. G. Greenish** - London, **R. Grengg** - Wien, **F. L. Hahn** - Frankfurt a. M., **M. Haitinger** - Wien, **F. Haurowitz** - Prag, **L. van Itallie**-Leiden, **H. Jansch**-Wien, **S. Kakiuchi**-Tokio, **J. Kendall**-New York, **J. Kisser**-Wien, **G. Klein**-Heidelberg, **H. Kleinmann**-Berlin, **P. D. C. Kley**- Delft, **F. Knoop**-Tübingen, **L. Kofler**-Innsbruck, **J. M. Kolthoff** - Minneapolis, **G. Lunde** - Stavanger, **K. L. Maljaroff** - Moskau, **A. Martini** - Rosario, **A. Mayrhofer** - Wien, **L. B. Mendel** - New Haven, **A. Miolati** - Padova, **H. Molisch** - Wien, **J. M. Nelson** - New York, **J. B. Niederl** - New York, **W. Nonnenbruch** - Prag, **F. Paneth** - Königsberg, **J. K. Parnas**-Lemberg, **V. Patzelt**-Wien, **W. Pauli**-Wien, **E. Philippi**-Innsbruck, **L. Pincussen**-Berlin, **D. Prianischnikow**-Moskau, **H. Přibram**-Prag, **K. Rast**-Leverkusen, **P. Rona**-Berlin, **L. Rosenthaler**-Bern, **O. Ruff**-Breslau, **H. Schmalfuß**-Hamburg, **E. Schmitz**-Breslau, **N. Schoorl**-Utrecht, **F. Schulz**-Jena, **C. Schwarz**-Wien, **Y. Shibata**-Tokio, **H. Siedentopf**-Jena, **E. v. Skramlik**-Jena, **D. D. van Slyke**-New York, **A. Soltys** - Graz, **K. Spiro** - Basel, **E. Starkenstein** - Prag, **W. Stepp** - Breslau, **J. Stoklasa** - Prag, **K. Thomas**-Leipzig, **J. Tillmans**-Frankfurt a. M., **A. Tschermak-Seysenegg**-Prag, **A. Tschirch**-Bern, **C. Urbach** - Prag, **A. Viehoever** - Philadelphia, **C. Weygand** - Leipzig, **H. Winterstein** - Breslau, **O. Wintersteiner**-New York, **F. Zaribnicky**-Wien, **R. Zeynek**-Prag

Mit einem Bildnis, 100 Abbildungen im Text, 3 Tafeln und zahlreichen Tabellen

EMIL HAIM & CO.
WIEN UND LEIPZIG
1932

INHALTSVERZEICHNIS.

WILHELM BÖTTGER zum 2. Oktober 1931 I

A. ORIGINALABHANDLUNGEN.

Seite

DENIGÈS, G., Microchimie des dérivés médicamenteux de l'acide cinchoninique (Atophan et Fantane) 430
EIGENBERGER, E., Einsatznutschen zur Filtration kleiner Substanzmengen 57
ETTISCH, G. und J. TAMCHYNA, Ein kapillarchemischer (Mikro-) Silbernachweis 92
FEIGL, F., Bemerkungen zur Abhandlung von Herrn H. Holzer 64
FEIGL, F., siehe HAITINGER, M., F. FEIGL und A. SIMON.
FIGALA, N., siehe LINDNER, J. und N. FIGALA.
FISCHER, R., Zum mikrochemischen Nachweis der gebräuchlichsten Schlafmittel 409
FUCHS, L., Bemerkungen über die Verwendbarkeit von mikrochemischen Waagen neuerer Konstruktion 456
FÜNER, W., Elektrischer Ofen zur Mikroelementaranalyse ohne Hohlgranate 66
GOLDBERGER, F. und O. KIENBERGER, Die Probe auf dem Probierstein als einfacher Nachweis von Pallado- und Iridoplatin des Handels als Vorprobe für den Analytiker 397
GRÜNTZIG, W., siehe WEYGAND, C. und W. GRÜNTZIG.
HAITINGER, M., F. FEIGL und A. SIMON, Beiträge zur mikrochemischen Auswertung der Fluoreszenzanalyse 117
HECHT, F., Zur Analyse sehr kleiner Mengen von Morogoro-Uraniniten. Ein Beitrag zur Mikromineralanalyse. (Vorläufige Mitteilung) 45
HETTERICH, H., Über mikrochemische Bilduntersuchung 27
HETTERICH, H., Über einen Mikroextraktionsapparat 379
HOFMANN, R., Über zwei neue mikrochemische Methoden zum Nachweis des Nikotins neben Pyridin und seinen Derivaten 53
HOLZER, H., Zur Anwendung des p-Dimethylaminobenzylidenrhodanins in der Tüpfelanalyse 60
HOPPE-SEYLER, F. A., Abänderungen der Destillationsapparatur zur Bestimmung kleiner Ammoniakmengen (Mikrokjeldahl) nach Parnas und Wagner 446
KEMPERLING, N., siehe KLEIN, G., H. WENZL und N. KEMPERLING.
KIENBERGER, O., siehe GOLDBERGER, F. und O. KIENBERGER.
KLEIN, G., H. WENZL und N. KEMPERLING, Der mikrochemische Nachweis flüchtiger Fettsäuren in der Pflanze. I. 70
KOFLER, A. und A. MAYRHOFER, Über verschiedene Kristallisationsformen des Orthoforms 460
KÖGEL, G., Fluoreszenz-Intravitalmikroskopie und Photochemotherapie . . 450
KÖGEL, G., Über den Nachweis geringster metallischer Spuren durch physikalische Entwicklung 452

Seite

LINDENFELD, K., Notiz über Mikrodestillation 90
LINDNER, J. und N. FIGALA, Zur maßanalytischen Bestimmung kleiner Mengen Kohlensäure 440
MAYRHOFER, A., siehe KOFLER, A. und A. MAYRHOFER.
MIKA, J., Mikro-acidimetrische Studien II. 384
RAUTERBERG, E., Mikrophosphorsäurebestimmung mit Strychninmolybdat 467
REŽEK, A., Ein Gefäß für das Abdampfen im Vakuum 97
SCHADENDORFF, E. und M. K. ZACHERL, Eine neue Mikrobestimmung des Kohlenstoffs durch nasse Verbrennung. (II. Mitteilung.) Verbrennung von Flüssigkeiten 99
SIMON, A., siehe HAITINGER, M., F. FEIGL und A. SIMON.
TAMCHYNA, J., siehe ETTISCH, G. und J. TAMCHYNA.
URBACH, C., Die stufenphotometrische Mikroanalyse des Trink- und Nutzwassers (I. Mitteilung) 483
VETTER, FR., Mikroanalytische Methoden für das Industrielaboratorium. II. Eine Abänderung der Pregl'schen Mikro-C-, -H-Bestimmung bei ausschließlicher Verwendung von Sauerstoff 109
VETTER, FR., Mikroanalytische Methoden im Industrielaboratorium. III. Mikroapparatur zur gravimetrischen Bestimmung des Wassers in Kohlen und andern festen Stoffen 407
WASITZKY, A., Die Trennung von Casein und Albumin in kleinen Milchmengen 114
WENZL, H., siehe KLEIN, G., H. WENZL und N. KEMPERLING.
WEYGAND, C. und W. GRÜNTZIG, Ein neuer Mikroskop-Heiztisch zur Beobachtung und zur Schmelzpunktbestimmung im durchfallenden und auffallenden Licht 1
WIESENBERGER, E., Die Anwendung der elektromagnetischen Mikrowaage bei der Ausführung von Rückstandsbestimmungen und Elektrolysen nach dem Gammaverfahren 10
WINCKELMANN, J., Über einige neue Methoden der präparativen Mikrochemie. Vorläufige Mitteilung 437
ZACHERL, M. K., siehe SCHADENDORFF, E. und M. K. ZACHERL.

B. SAMMELREFERAT.

Kohlehydrate. I. Teil: Mikrobestimmung der Kohlehydrate in reinen Lösungen und in den Bestandteilen des tierischen Körpers. Z. DISCHE . . 129

C. REFERATE 188, 505
D. BÜCHERSCHAU 195
E. VARIA 197, 514

Die Mikrochemie auf der 44. Hauptversammlung des Vereines Deutscher Chemiker zu Wien, Pfingsten 1931 199—377
Tagung der Mikrochemie 201
Versammlungsbericht 202

VORTRÄGE.

Seite

BENEDETTI-PICHLER, A., Die Isolierung von Äthylalkohol aus menschlichen Organen 285
EMICH, F., Über Mikrochemie 205
FEIGL, F., Katalyse und Mikrochemie 296
FRIEDRICH, A., Über die quantitative mikroanalytische Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes 329
FRIEDRICH, A., Über die quantitative mikroanalytische Bestimmung des Stickstoffes (Dumas) 355
GRASSNER, F., Die Anwendung der Mikrochemie in der Technik 255
HAHN, F. L., Die heutigen Grenzen mikrochemischen Erkennens und Messens 313
KRUMHOLZ, P., Über Tüpfelreaktionen 277
LIEB, H., Entwicklung und Fortschritte der quantitativen organischen Mikroanalyse 230
LIEB, H., Eine neue Mikrobestimmung des Kohlenstoffs durch nasse Verbrennung 328
LINDNER, J., Fortschritte in der maßanalytischen Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung im Dienste der Elementaranalyse 321
LÖFFLER, H., Über Mikrogasanalyse 277
MÜLLER, R. H., Über die Anwendung photoelektrischer Methoden in der Präzisionskolorimetrie 285
NIEDERL, J. B., Über die quantitative mikroanalytische Bestimmung von geringsten Mengen Äthylalkohol in menschlichen und tierischen Organen und dessen Isolierung daraus in Form von Äthyljodid 285
NIESSNER, M., Mikrochemie in der Metallkunde 271
STREBINGER, R., Anwendung der Mikroanalyse bei Untersuchungen von Edelmetallegierungen 306
WERNER, O., Über den Verteilungszustand gelöster Stoffe in extremer Verdünnung 360
Mikrochemie-Ausstellung 369

SACHREGISTER.

MIKROCHEMIE, Band X (1931/32).

(Die ***kursiv*** gedruckten Schlagwörter betreffen Referate.)

Seite

Abdampfen im Vakuum, Ein Gefäß für das — (A. Režek) 97

Albumin, Die Trennung von Casein und — in kleinen Milchmengen (A. Wasitzky) 114

Aldehyde, Argentometrische Aldehyd-Bestimmung (W. Ponndorf) . . 510

Alkaloide, Schema zur mikrochemischen Identifizierung von Alkaloiden (J. F. H. Amelink) 505

Alkaloide, Mikrochemische Identifizierung von Alkaloiden (J. F. H. Amelink) 506

Ammoniak, Abänderungen der Destillationsapparatur zur Bestimmung kleiner Ammoniakmengen (Mikrokjeldahl) nach Parnas und Wagner (F. A. Hoppe-Seyler) 446

Atophan, Michrochimie des dérivés médicamenteux de l'acide cinchoninique (Atophan et Fantane) (G. Denigès) 430

Äthoxylgruppe, Eine neue Methode zur maßanalytischen Bestimmung der Methoxyl- und Äthoxylgruppe (F. Vieböck und A. Schwappach) 188

Bemerkungen zur Abhandlung von Herrn H. Holzer (F. Feigl) . . . 64

Bilduntersuchung, Über mikrochemische — (H. Hetterich) 27

Böttger, Wilhelm Böttger zum 2. Oktober 1931 I

CO_2-Bestimmung in Flüssigkeiten und Geweben durch Mikrotitration (A. Krogh und P. Brandt-Rehberg) 191

Dimethylaminobenzylidenrhodanin, Zur Anwendung des p.-D. in der Tüpfelanalyse (H. Holzer) . . . . . 60 (vgl. 64)

Dumas, Über die quantitative mikroanalytische Bestimmung des Stickstoffes (A. Friedrich) 355

Edelmetallegierungen, Anwendung der Mikroanalyse bei Untersuchungen von — (R. Strebinger) 306

Einsatznutschen zur Filtration kleiner Substanzmengen (E. Eigenberger) 57

Eisen, Mikro-Eisenbestimmung an chlorophyll-defekten Blättern (D. Runehjelm) 190

Elektrischer Ofen zur Mikroelementaranalyse ohne Hohlgranate (W. Füner) 66

Elektrolysen, Die Anwendung der elektromagnetischen Mikrowaage bei der Ausführung von Rückstandsbestimmungen und — nach dem Gammaverfahren (E. Wiesenberger) 10

Elektromagnetische Mikrowaage, Die Anwendung der — bei der Ausführung von Rückstandsbestimmungen und Elektrolysen nach dem Gammaverfahren (E. Wiesenberger) 10

Elementaranalyse, Fortschritte in der maßanalytischen Kohlenstoff- und Wasserstoff-Bestimmung im Dienste der — (J. Lindner) 321

Seite

Erkennen, Die heutigen Grenzen mikrochemischen Erkennens und Messens (F. L. Hahn) 313

Fantane, Michrochimie des dérivés médicamenteux de l'acide cinchoninique (Atophan et Fantane) (G. Denigès) 430

Fett, Über eine exakte Mikromethode zur Bestimmung der gesamten Fett- und Lipoidmenge im Blute (R. Iwatsuru, M. Morimoto und M. Tamura) 192

Fettsäuren, Der mikrochemische Nachweis flüchtiger — in der Pflanze. I. (G. Klein, H. Wenzl, N. Kemperling) 70

Fettsäuren, Mikromethode zur Bestimmung von vierfach ungesättigten — (H. Tangl) 191

Filtration, Einsatznutschen zur — kleiner Substanzmengen (E. Eigenberger) 57

Filtrationsapparate, Selbsttätige — (J. V. Dubský) 195

Fluoreszenzanalyse, Beiträge zur mikrochemischen Auswertung der — (M. Haitinger, F. Feigl und A. Simon) 117

Fluoreszenz-Intravitalmikroskopie und Photochemotherapie (G. Kögel) 450

Fruktose, Eine kolorimetrische Fruktose-Bestimmung und ihre Anwendung bei Gemischen verschiedener Kohlehydrate (H. Bredereck) 509

Grenzen, Die heutigen — mikrochemischen Erkennens und Messens (F. L. Hahn) 313

Halogen, Halurorganimetrie. Ein neues Verfahren zur Bestimmung von Halogen in organischen Substanzen (J. A. Sanchez) 194

Halurorganimetrie, Ein neues Verfahren zur Bestimmung von Halogen in organischen Substanzen (J. A. Sanchez) 194

Industrielaboratorium, Mikroanalyt. Methoden im — (Fr. Vetter) 109, 407

Iridoplatin, Die Vorprobe auf dem Probierstein als einfacher Nachweis von Pallado- und Iridoplatin des Handels als Vorprobe für den Analytiker (F. Goldberger und O. Kienberger) 397

Juglon, Zum Nachweis des — (R. Fischer und F. Stauder) 505

Kadmium, 2,7-Diaminofluoren als Reagens auf Zink, Cadmium und Kupfer (J. Schmidt und W. Hinderer) 509

Kalzium, Methode zur Bestimmung kleiner Silicium- und Calciummengen in den Lungen (A. G. Kroese und F. J. Nieuwenhuyzen) . . 190

Kasein, Die Trennung von Casein und Albumin in kleinen Milchmengen (A. Wasitzky) 114

Katalyse und Mikrochemie (F. Feigl) 296

Kieselsäure, Quantitative mikroanalytische Bestimmung der — in wäßrigen Bodenauszüge (A. Němec, J. Lanik und A. Koppová) . . . 507

Kohlehydrate. Sammelreferat (Z. Dische) 129

Kohlendioxyd, CO_2-Bestimmung in Flüssigkeiten und Geweben durch Mikrotitration (A. Krogh und P. Brandt-Rehberg) 191

Kohlensäure, Zur maßanalytischen Bestimmung kleiner Mengen — (J. Lindner und N. Figala) 440

Seite

Kohlenstoff, Eine neue Mikrobestimmung des Kohlenstoffs durch nasse Verbrennung. (II. Mitteilung.) Verbrennung von Flüssigkeiten. (E. Schadendorff und M. K. Zacherl) 99
Kohlenstoff und Wasserstoff, Eine Abänderung der Pregl'schen Mikro-C-H-Bestimmung bei ausschließlicher Verwendung von Sauerstoff (Fr. Vetter) 109
Kohlenstoff und Wasserstoff, Fortschritte in der maßanalytischen Kohlenstoff- und Wasserstoff-Bestimmung im Dienste der Elementaranalyse (J. Lindner) 321
Kohlenstoff und Wasserstoff, Über die quantitative mikroanalytische Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes (A. Friedrich) . . 329
Kolorimetrie, Über die Anwendung photoelektrischer Methoden in der Präzisionskolorimetrie (R. H. Müller) 285
Kupfer, 2,7-Diaminofluoren als Reagens auf Zink, Cadmium und — (J. Schmidt und W. Hinderer) 509
Lipoide, Über eine exakte Mikromethode zur Bestimmung der gesamten Fett- und Lipoidmengen im Blute (R. Iwatsuru, M. Morimoto und M. Tamura) 192
Messen, Die heutigen Grenzen mikrochemischen Erkennens und Messens (F. L. Hahn) 313
Metallische Spuren, Über den Nachweis geringster metallischer Spuren durch physikalische Entwicklung (G. Kögel) 452
Metallkunde, Mikrochemie in der — (M. Nießner) 271
Methoxylgruppe, Eine neue Methode zur maßanalytischen Bestimmung der Methoxyl- und Äthoxylgruppe (F. Vieböck und A. Schwappach) 188
Methylalkohol, Der — in den alkoholischen Getränken (N. A. Espinosa) 193
Mikro-acidimetrische Studien. II. (J. Mika) 384
Mikroanalyse, Entwicklung und Fortschritt der quantitativen organischen — (H. Lieb) 230
Mikrochemie, Die — auf der 44. Hauptversammlung Deutscher Chemiker zu Wien, Pfingsten 1931 199
Mikrochemie, Über — (F. Emich) 205
Mikrochemie in der Technik, Die Anwendung der — (F. Grassner) . . 255
Mikrochemie in der Metallkunde (M. Nießner) 271
Mikrochemie, Katalyse und — (F. Feigl) 296
Mikrochemie, Über einige neue Methoden der präparativen —. Vorläufige Mitteilung (J. Winckelmann) 437
Mikrochemie-Ausstellung 369
Mikrodestillation, Notiz über — (K. Lindenfeld) 90
Mikroextraktionsapparat, Über einen — (H. Hetterich) 379
Mikrogasanalyse, Über — (H. Löffler) 277
Mikro-Kjeldahl, Abänderungen der Destillationsapparatur zur Bestimmung kleiner Ammoniakmengen (Mikrokjeldahl) nach Parnas und Wagner (F. A. Hoppe-Seyler) 446

Seite

Mikromineralanalyse, Zur Analyse sehr kleiner Mengen von Morogoro-Uraniniten. Ein Beitrag zur Mikromineralanalyse. Vorläufige Mitteilung (F. Hecht) 45

Mikrophosphorsäurebestimmung mit Strychninmolybdat (E. Rauterberg) 467

Mikroskop-Heiztisch, Ein neuer — zur Beobachtung und zur Schmelzpunktbestimmung im durchfallenden und auffallenden Licht (C. Weygand und W. Grüntzig) 1

Mikrowaage, Die Anwendung der elektromagnetischen — bei der Ausführung von Rückstandsbestimmungen und Elektrolysen nach dem Gammaverfahren (E. Wiesenberger) 10

Milchsäure, Milchsäurebestimmung im Muskel (E. Ernst und J. Takács) 192

Morogoro-Uraninite, Zur Analyse sehr kleiner Mengen von — (F. Hecht) 45

Nahrungs- und Genußmittel, Mikroskopische Untersuchung pflanzlicher — (G. Gassner) 195

Nikotin, Über zwei neue mikrochemische Methoden zum Nachweis des Nikotins neben Pyridin und seinen Derivaten (R. Hofmann) 53

Ofen, Elektrischer — zur Mikroelementaranalyse ohne Hohlgranate (W. Füner) 66

Orthoform, Über verschiedene Kristallisationsformen des Orthoforms (A. Kofler und A. Mayrhofer) 460

Palladoplatin, Die Probe auf dem Probierstein als einfacher Nachweis von Pallado- und Iridoplatin des Handels als Vorprobe für den Analytiker (F. Goldberger und O. Kienberger) 397

Permanganattitration im erwärmten Medium (E. Ernst und G. Horváth) 191

Pflanzenmikrochemie (O. Tunmann und L. Rosenthaler) . . . 196

Pflanzliche Nahrungs- und Genußmittel, Mikroskopische Untersuchung pflanzlicher — (G. Gassner) 195

Photochemotherapie, Fluoreszenz-Intravitalmikroskopie und — (G. Kögel) 450

Photoelektrische Methoden, Über die Anwendung photoelektrischer Methoden in der Präzisionskolorimetrie (R. H. Müller) 285

Platin, Die Probe auf dem Probierstein als einfacher Nachweis von Pallado- und Iridoplatin des Handels als Vorprobe für den Analytiker (F. Goldberger und O. Kienberger) 397

Präparative Mikrochemie, Über einige neue Methoden der . Vorläufige Mitteilung (J. Winckelmann) 437

Probe auf dem Probierstein, Die — als einfacher Nachweis von Pallado- und Iridoplatin des Handels als Vorprobe für den Analytiker (F. Goldberger und O. Kienberger) 397

Quecksilber, Zur quantitativen Bestimmung kleiner Quecksilbermengen in organischen Substanzen (R. O. Moller) 189

Seite

Rückstandsbestimmungen, Die Anwendung der elektromagnetischen Mikrowaage bei der Ausführung von — und Elektrolysen nach dem Gammaverfahren (E. Wiesenberger) 10

Schlafmittel, Zum mikrochemischen Nachweis der gebräuchlichsten — (R. Fischer) 409

Schmelzpunktbestimmung, Ein neuer Mikroskop-Heiztisch zur Beobachtung und zur — im durchfallenden und auffallenden Licht (C. Weygand und W. Grüntzig) 1

Schwefelverbindungen, Verhalten und Wirkung organischer — im Hundeorganismus. I. Mitteilung: Wirkung und Schicksal des Thiophens im Stoffwechsel des Hundes (A. A. Christomanos) 193

Silber, Ein kapillarchemischer (Mikro-) Silbernachweis (G. Ettisch und J. Tamchyna) 92

Silizium, Methode zur Bestimmung kleiner Silicium- und Calciummengen in den Lungen (A. G. Kroese und F. J. Nieuwenhuyzen) . . . 190

Stickstoff, Über die quantitative mikroanalytische Bestimmung des Stickstoffes (Dumas) (A. Friedrich) 355

Stufenphotometrische Mikroanalyse, Die — des Trink- und Nutzwassers. 1. Mitteilung (C. Urbach) 483

Sulfidschwefel, Die Bestimmung des Sulfidschwefels im Stuhle (J. St. Lorant und F. Reimann) 191

Tagung der Mikrochemie 201

Thiophen, Verhalten und Wirkung organischer Schwefelverbindungen im Hundeorganismus. I. Mitteilung: Wirkung und Schicksal des Thiophens im Stoffwechsel des Hundes (A. A. Christomanos) 193

Trink- und Nutzwasser, Die stufenphotometrische Mikroanalyse des —. 1. Mitteilung (C. Urbach) 483

Uraninite, Zur Analyse sehr kleiner Mengen von Morogoro-Uraniniten (F. Hecht) 45

Vanadin, Über den Nachweis sehr kleiner Vanadin-Mengen (F. Ephraim) 512

Verdünnung, Über den Verteilungszustand gelöster Stoffe in extremer — (O. Werner) 360

Versammlungsbericht 202

Verteilungszustand, Über den — gelöster Stoffe in extremer Verdünnung (O. Werner) 360

Waagen, Bemerkungen über die Verwendbarkeit von mikrochemischen — neuerer Konstruktion (L. Fuchs) 456

Wasser, Mikroapparatur zur gravimetrischen Bestimmung des Wassers in Kohlen und anderen festen Stoffen (Fr. Vetter) 407

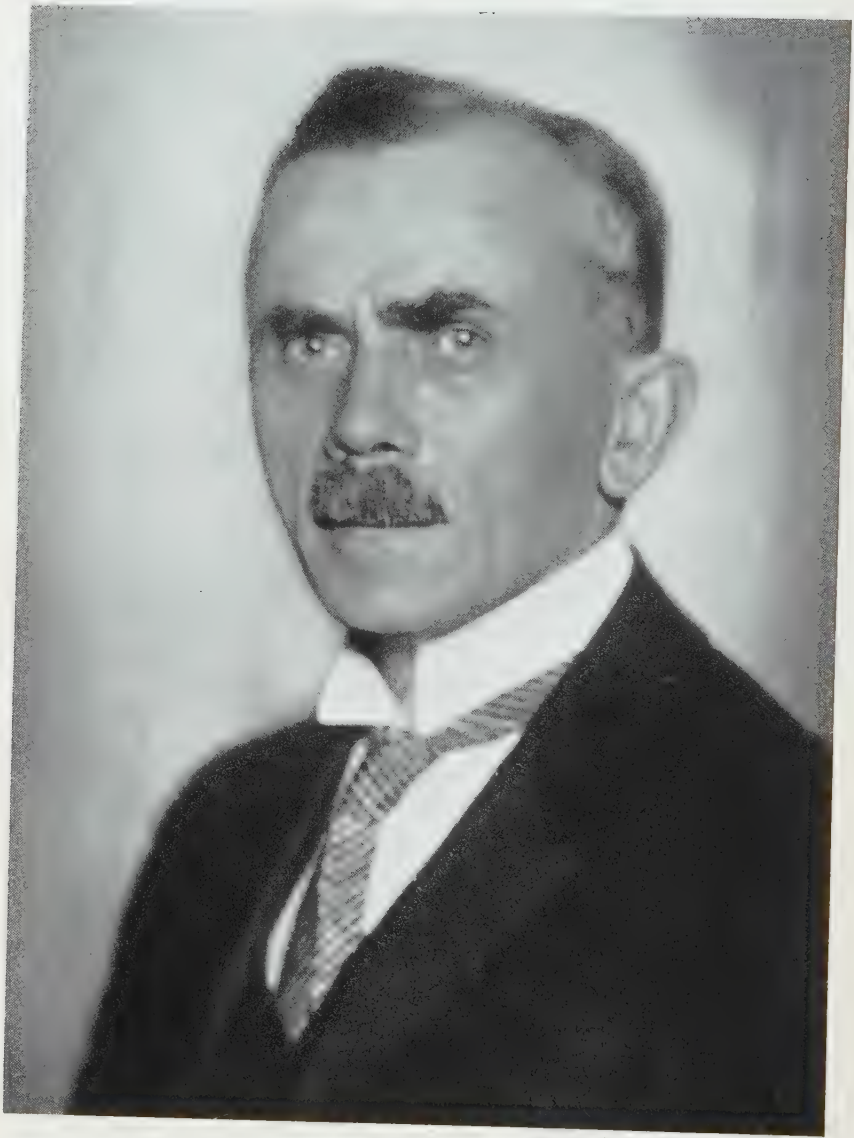
Wasser, Die stufenphotometrische Mikroanalyse des Trink- und Nutzwassers. 1. Mitteilung (C. Urbach) 483

Zink, 2,7-Diaminofluoren als Reagens auf —, Cadmium und Kupfer (J. Schmidt und W. Hinderer) 509

Zucker, Kohlehydrate. Sammelreferat (Z. Dische) 129

Zucker, Radiometrische Mikrozuckerbestimmung (R. Ehrenberg) . . 193

DRUCK ELBEMÜHL, WIEN, IX. BERGGASSE 31



Atelier E. Hoenisch, Leipzig

W. Bötzow.

WILHELM BÖTTGER

zum 2. Oktober 1931.

Am 2. Oktober vollendet Wilhelm Böttger sein 60. Lebensjahr. Geboren 1871 in Leisnig (Sachsen), bezog er nach Absolvierung der höheren Schule die Universität Leipzig, dann Göttingen, ergriff zunächst das Studium der Pharmazie, trat später zur Chemie über, wurde 1897 promoviert und habilitierte sich als Privatdozent für Chemie im Jahre 1903. Nach einjährigem Aufenthalt (Oktober 1904 bis Oktober 1905) als Research Associate of Massachusetts Institute of Technology in Boston, Mass., nahm er im Jahre 1909 seine Lehrtätigkeit in Leipzig wieder auf, wo er auch jetzt als Vorstand der chemischen Abteilung des Physikalisch-Chemischen Universitätsinstitutes wirkt.

Mit dem Namen Wilhelm Böttger ist die Entwicklung und Geschichte der analytischen Chemie untrennbar verbunden. Aus Wilhelm Ostwalds klassischer Schule hervorgegangen, hat Böttger mit seinen Arbeiten an der physikalisch-chemischen Fundierung der chemischen Analyse hervorragenden Anteil genommen. Durch zahlreiche Abhandlungen, durch die Herausgabe seines Werkes: »Qualitative Analyse und ihre wissenschaftliche Begründung«, das bereits in siebenter Auflage vorliegt, in fremde Sprachen übersetzt wurde und sich unter anderem ganz besonders durch die hervorragende Berücksichtigung mikrochemischer Methoden auszeichnet, durch seine Mitarbeit an Handbüchern, durch seine rege Teilnahme an wissenschaftlichen Tagungen verschiedenster Richtung, durch seine erfolgreichen Bemühungen um die Fachgruppe für analytische Chemie im »Verein Deutscher Chemiker« hat er es wie kein anderer vermocht, das

Ansehen der analytischen Chemie im Rahmen des Gesamtgebietes der Chemie zu festigen und zu vertiefen. Es ist daher in erster Linie Böttger zu verdanken, wenn bei der Wiener Tagung des Vereines Deutscher Chemiker der MIKROCHEMIE der ihr gebührende Platz zugewiesen wurde. Eine große Zahl von Schülern und Mitarbeitern hat durch das von ihm geleitete Praktikum, durch seine Vorlesungen und durch die Heranziehung zur wissenschaftlichen Arbeit von Böttger wertvollste Anregungen und Förderung für ihre weitere Entwicklung empfangen.

Wir wissen es sehr hoch einzuschätzen und sind stolz darauf, daß Wilhelm Böttger, in dem den Fachgenossen das «Gewissen der analytischen Chemie» verkörpert erscheint, unserem Redaktionsstab angehört.

Aus Anlaß des 60. Geburtstages Böttgers hatten wir die Herausgabe einer Festschrift geplant. Es wäre uns eine Ehre und Freude gewesen, sie ihm als Zeichen unserer Dankbarkeit am heutigen Tage zu überreichen. Auf Böttgers ausdrücklichen Wunsch haben wir von dieser Absicht, die ihm leider vorzeitig bekannt geworden war, Abstand nehmen müssen. Wir können aber nicht darauf verzichten, an dieser Stelle, die ein dauerndes Gedenkblatt im Archiv der «MIKROCHEMIE» darstellt, unsere herzlichsten Wünsche zum Ausdruck zu bringen: Möge dem Sechzigjährigen die Freude am nützlichen, emsigen Schaffen noch viele Jahre erhalten bleiben, mögen auch in Hinkunft so schöne Erfolge die Arbeit des von seinen Schülern und Freunden hochverehrten Lehrers und Forschers begleiten und möge er – das sei unsere Bitte – auch fernerhin der «MIKROCHEMIE» ein treuer Freund, Berater und Mitarbeiter sein.

Redaktion und Verlag
der
MIKROCHEMIE.

Originalabhandlungen.

Ein neuer Mikroskop-Heiztisch zur Beobachtung und zur Schmelzpunktbestimmung im durchfallenden und auffallenden Licht.

Von **C. Weygand** und **W. Grüntzig.**

Aus dem chemischen Laboratorium der Universität Leipzig.

(Eingelangt am 16. Juni 1931.)

1. Heiztisch und chemischer Mikromanipulator.

Den im folgenden zu beschreibenden Mikroskop-Heiztisch haben wir anläßlich von Untersuchungen über den Polymorphismus organischer Substanzen entwickelt, er dürfte sich indessen auch für viele andere mikrochemische Zwecke eignen.

Er besteht aus zwei Teilen, von denen der untere (I) für sich allein verwendbar ist, beide zusammen bilden ein Arbeitsgerät, das man als chemischen Mikromanipulator bezeichnen könnte.

Teil I (Fig. 1) ruht auf einer kreisrunden Schieferplatte (A) mit zentraler Bohrung, deren Dimensionen dem Drehtisch des Polarisationsmikroskops angepaßt sind, er wird wie der Kreuztisch auf dem Drehtisch festgeschraubt, eine Asbestplatte schützt den letzteren vor stärkerer Erwärmung. Die Schieferplatte trägt zwei Polklemmen, von denen auf der Unterseite die Drähte zur Spule (C) führen. Die Spule C ruht in einem zylindrischen Gehäuse (B), sie ist mit asbestisoliertem Widerstandsdraht bewickelt. Auf dem Gehäuse B als Unterschlitten gleitet in Schwalbenschwanznuten der ringförmige Oberschlitten (D). Der Oberschlitten enthält rechtwinklig zur Schwalbenschwanzführung

eine Aussparung für den Objektträger mit Deckglas 12×12 mm, ferner eine Bohrung für das Spezialthermometer (abgekürzte Thermometer mit Halbgradteilung für 0 bis 100°, 80 bis 200° usw.) mit der zugehörigen Führung und an der gegenüberliegenden Seite einen Handgriff mit Kunstharzknopf zum bequemen Verschieben. Durch die beiden senkrecht zueinander laufenden Verschiebungsmöglichkeiten ist eine Kreuztischbewegung erreicht,

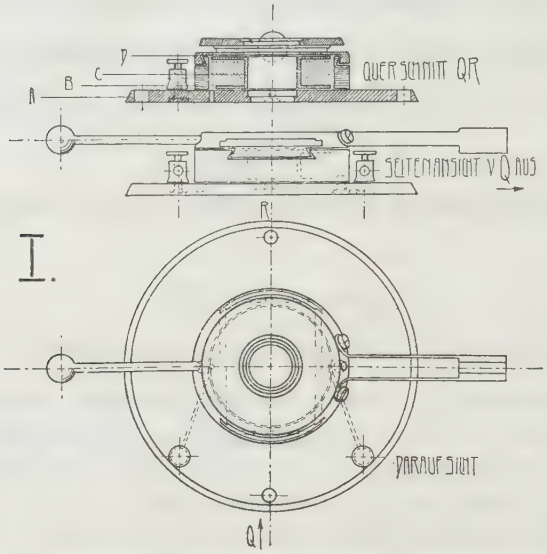


Fig. 1. Chemischer Mikro-Manipulator. Unterbau (Heiztisch).

mit welcher beliebige Stellen des Präparats, insbesondere die Deckglaskanten, in das Gesichtsfeld gebracht werden können. Zur Verbesserung der Temperaturkonstanz hat der Oberschlitten eine Eindrehung, in die ein kreisrundes Glasplättchen eingesetzt werden kann, falls Teil I für sich allein benutzt wird. Eine ebensolche Eindrehung hat die Schieferplatte, auch diese trägt ein Glasplättchen, um den Mikroskopkondensor nach Möglichkeit vor direkter Wärmestrahlung zu schützen. Das Thermometer wird in der Bohrung mit einer kleinen Rolle von Schablonenkupferblech streng eingedichtet.

Der Oberbau (Teil II, Fig. 2) besteht aus einem runden Tisch, der unten einen Verstärkungsring trägt. Er wird am Bügel des

Mikroskopstativs befestigt, die betreffende Klemmvorrichtung erlaubt es, den Tisch horizontal zu schwenken und vertikal zu senken, bezw. zu heben, so daß er leicht über dem Unterteil justiert werden kann. Im Tisch ist eine Bohrung zur Durchsicht ausgespart, er hat wiederum eine Eindrehung für das schützende

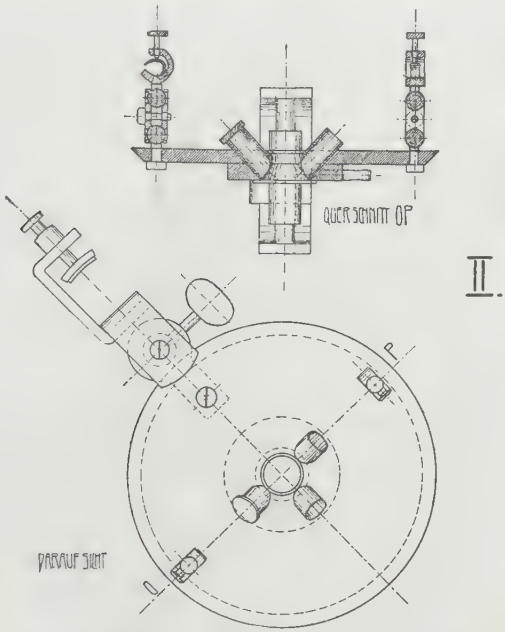


Fig. 2. Chemischer Mikro-Manipulator. Oberbau.

Glasplättchen. Außerdem trägt er drei kurze, im Winkel von 45° nach innen geneigte Tuben, die bei Nichtgebrauch mit Messingkappen verschlossen werden. Die verlängerten Achsen der drei Tuben durchstoßen das Deckglas im Zentrum des Gesichtsfeldes. Durch sie werden eingeführt: Impfstift (Platindraht oder Glasfaden), Heizstift oder Thermoelement. Für zwei der Tuben sind Halter mit doppeltem Kugelgelenk und Spannklemme auf dem oberen Tisch angebracht, um die Hilfsgeräte nicht ständig ablegen zu müssen.

In die Tuben passen ferner Schlaucholiven zur Einführung warmer oder kalter Luft. Heiße Luft wird in einem Föhn, dessen

Propeller und Heizwiderstand durch Vorschaltwiderstände reguliert werden können, bereitet und durch einen Metallschlauch mit Bajonettstück (zum Überschieben über das Mündungsrohr des Föhns) eingeführt. Kalte Luft liefert gleichfalls der Föhn, sie kann natürlich auf dem Wege zum Manipulator weitergekühlt

Fig. 3. Mikro-Manipulator mit Heißluftzuführung und Impfstift auf Leitz-Polarisations-Mikroskop.

werden. Bei starker Luftzufuhr ist das obere Glasplättchen mit einer Klammer zu befestigen oder durch einen Ring zu beschweren, da es sonst vom Druck abgehoben wird.

Die Metallteile bestehen aus vernickeltem Messing. Der Chromnickelheizdraht hat 0,5 mm Durchmesser und einen Gesamtwiderstand von etwa 10 Ohm. Der Strom wird dem Netz entnommen,

in vier Stufen für verschiedene ineinander übergreifende Temperaturgebiete durch einen Spannungsteiler gedrosselt und durch einen vorgeschalteten, variablen Rheostaten weiterreguliert. Um den Tisch konstant auf 45° zu halten, sind 0,6 Ampere, für 100° etwa 1,5 Ampere nötig, er kann — soweit es nicht die Rücksicht auf das

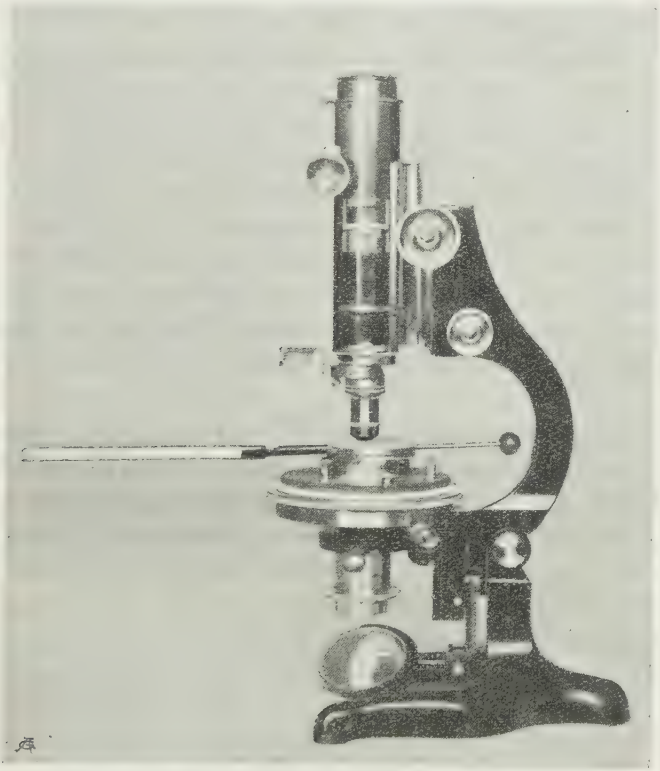


Fig. 4. Heiztisch (Teil I des Manipulators) auf Leitz-Polarisations-Mikroskop.

Mikroskop verbietet — beliebig hoch erhitzt werden, bis 300° ist er geprüft.

Zur schnellen Wiederabkühlung des Unterteiles I dient ein starker Messingring mit Griff, er kann mit Kältemischung oder Äther-Kohlensäure vorgekühlt werden und ist so bemessen, daß er bei langbrennweitigen Objektiven die dauernde Beobachtung während der Temperatursenkung gestattet.

Das vollständige Aggregat (Fig. 3) findet vorzugsweise bei Polymorphieuntersuchungen Verwendung. Wir werden demnächst in einer Arbeit über den Polymorphismus der natürlichen Fette zeigen, eine wie große und bisher unbeachtete Bedeutung Polymorphiefragen für die exakte Schmelzpunktbestimmung haben können. Der Unterteil I (Fig. 4) allein kann zu folgenden Manipulationen benutzt werden:

1. Zur Beobachtung von Schmelzpräparaten zwecks Identifizierung beliebiger Substanzen. Es gelingt oft, solche Identifizierungen durch einen Blick in das Polarisationsmikroskop mit viel größerer Sicherheit zu erreichen als mit der „Mischprobe" im Schmelzpunktröhrchen. Charakteristische Phänomene qualitativer Art sind etwa der Erstarrungsmechanismus, die typischen Polarisationstöne, Achsenbilder im konvergenten Licht, Polymorphieerscheinungen usw. Quantitative Daten liefern z. B. die Kristallisationsgeschwindigkeiten bei bestimmter Temperatur, Umwandlungspunkte, Auslösungsrichtung typischer Flächen, Schmelzpunkt.

2. Als Mikroschmelzpunktapparat. Die Vorzüge der mikroskopischen Schmelzpunktbestimmung in dieser Zeitschrift zu betonen, erübrigt sich. Genaueste Schmelzpunktbestimmungen werden noch besser in der weiter unten beschriebenen Weise vorgenommen, doch sind sie auch mit dem Teil I in für viele Zwecke völlig ausreichender Schärfe wie folgt durchführbar:

Das Instrument wird am besten mit geeigneten Testsubstanzen in der Weise geeicht, daß man entweder ein Schmelzpräparat unter beliebig kleinem Deckgläschen herstellt oder eine Probe von geeigneter Korngröße ohne Deckglas in die Mitte des Objektträgers bringt, in den Schlitten einführt und langsam anheizt. Bei Serienbestimmungen hat der Schlitten den großen Vorteil, daß der Objektträger, da er allseitig von Metall umgeben ist, die Temperatur sehr rasch annimmt, man braucht daher nur wenig zu unterkühlen (höchstens 20°). Das Tempo der Erhitzung soll bei der Eichung und bei den Bestimmungen natürlich annähernd das gleiche sein, zuletzt etwa 1° pro Minute. Als Schmelzpunkt gilt die Temperatur, bei der die in der Mitte des Gesichtsfeldes befindlichen Anteile gleichzeitig verschwinden, die Annäherung an die Schmelztemperatur macht sich durch das Verschwinden der peripheren Anteile be-

merkbar. Mit dem Okularmikrometer verfolgt man den Vorgang in gut reproduzierbarer Weise. So erspart man sich die Korrektur für den herausragenden Faden. Es gelten im übrigen sinngemäß die kürzlich von H. Linser[1]) in dieser Zeitschrift mitgeteilten Erfahrungen mit dem Mikroschmelzpunktapparat von G. Klein. Unsere Modelle zeigen bis 100° etwa 1° zu tief an, über 100 bis 200° etwa 2°. Die Genauigkeit beträgt bei sorgfältiger Einhaltung der beim Eichen festgelegten Bedingungen ± 0,5°.

3. Für alle analytischen Mikroskopreaktionen, wobei man von den Leistungen des vollständigen Aggregats (heiße und kalte Luft. Impfung usw.) sehr nützlichen Gebrauch machen kann.

2. Schmelzpunktbestimmungen im auffallenden Licht.

Mit einer auf keine andere Weise zu erreichenden Exaktheit lassen sich Schmelzpunkte unter dem Mikroskop im auffallenden, gegebenenfalls im polarisierten Licht bei gekreuzten Nikols bestimmen. Man braucht dazu nichts als einen Opak-Illuminator und einen Metallblock mit einer Bohrung für das Thermometer, den man nach Entfernung des Mikroskopspiegels und des Beleuchtungsapparats, wenn nötig mit Asbestpappe isoliert, auf den Mikroskoptisch auflegt und von unten mit einem Mikrobrenner erhitzt.

Dadurch, daß das Quecksilbergefäß des Thermometers in einem Abstand von 1 mm direkt unterhalb des Schmelzgutes zu liegen kommt, fallen alle Fehlerquellen fort, die bei der Arbeit im durchfallenden Licht bestehen und die in der Unmöglichkeit, Thermometer und Präparat in engeren Kontakt zu bringen, begründet sind.

Noch eleganter und schonender für kostbare Instrumente gestaltet sich die Methode unter Benutzung des oben beschriebenen elektrischen Heiztisches (Teil I). Man entfernt die Schraube der einen Polklemme, zieht den Schlitten D ab, ersetzt ihn durch einen Vollschlitten von gleichen Dimensionen, mit Handgriff und Thermometerbohrung bis zur Achse und versieht die Polklemme wieder mit der Schraube (Fig. 5).

---

[1]) Mikrochemie, **IX**, 253 ff. (1931).

Man hat die Wahl zwischen mehreren Variationen:

1. Die Substanz wird — ähnlich wie beim bloc Maquenne — in eine kleine Vertiefung direkt auf das Metall aufgebracht und mit einem Deckglas bedeckt.

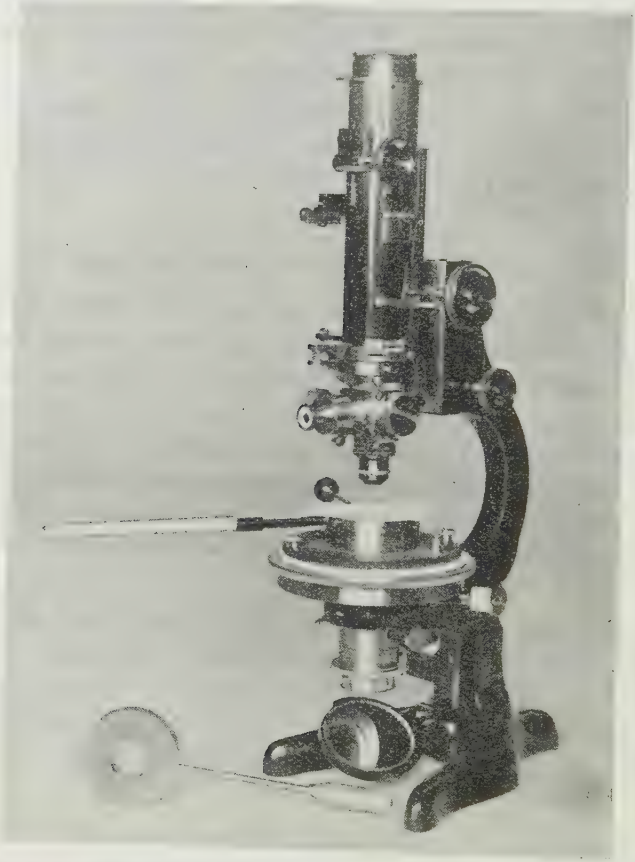


Fig. 5. Schmelzpunktbestimmungsapparat für auffallendes Licht auf Leitz-Polarisations-Mikroskop mit Opak-Illuminator.

2. Die Substanz wird auf ein Deckglas aufgebracht, dieses wird auf den (keine Vertiefung besitzenden) Vollschlitten gelegt.

3. Die Substanz wird auf einen Objektträger aufgebracht usw.

4. Es werden Schmelzpräparate zwischen zwei Deckgläsern ver-

schiedener Größe oder zwischen Objektträger und Deckglas hergestellt.

Beim Arbeiten mit dem ersten Verfahren findet die Genauigkeit der Bestimmung ihre Grenze lediglich in den inneren Einflüssen, wie Korngröße, Zersetzlichkeit, Polymorphie-Phänomene usw. Die reine Meßgenauigkeit ist nur noch von der Güte des Thermometers bestimmt. Nur wenig geringer ist die Genauigkeit beim Auflegen des Deckglases. Selbst wenn man — wie G. KLEIN — bequemlichkeitshalber mit dem Objektträger arbeitet, erreicht man jedenfalls mehr als bei dem Durchsichtsverfahren.

Das optische Bild, das der Opak-Illuminator liefert, ist, was nicht verschwiegen werden soll, niemals so „schön" wie das Durchsichtsbild. Bei einiger Gewöhnung empfindet man das jedoch in keiner Weise mehr als Mangel, die Vorzüge der Methode sind demgegenüber viel zu schlagend. Nur in manchen Spezialfällen zogen wir es für äußerst subtile Differentialdiagnosen bei unseren Polymorphiearbeiten vor, den Durchsichtstisch zur Festlegung von sehr geringen Schmelzpunktsdifferenzen zu verwenden, die er natürlich ohne weiteres mit sehr hoher Genauigkeit liefert. Durch die Bestimmung eines Fixpunktes im auffallenden Licht oder nach irgendeiner anderen Methode ließen sich diese Differenzen dann leicht absolut anschließen.

Da Untersuchungen über verschiedene, wie oben angedeutet, u. a. mit Polymorphiefragen zusammenhängende, grundsätzliche Probleme der Schmelzpunktbestimmung[2]) im Gange sind, wird der eine von uns später auf die Methode zurückkommen, es mag nur noch erwähnt werden, daß unsere Instrumente beim Arbeiten mit dem Objektträger praktisch die gleichen Daten liefern wie die übliche Bestimmung in der Kapillare.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Chemie-Sonderausschuß) dankt der eine von uns herzlichst für die Gewährung von Mitteln für diese Arbeit.

[2]) Naturwiss., **19**, 660 (1931).

Die Anwendung der elektromagnetischen Mikrowaage bei der Ausführung von Rückstandsbestimmungen und Elektrolysen nach dem Gammaverfahren[1]).

Von **Ernst Wiesenberger.**

Aus dem Laboratorium für allgemeine Chemie an der Technischen Hochschule Graz.

(Eingelangt am 30. Juli 1931.)

Einleitung, historische Notizen zur quantitativen Mikroelektrolyse.

Jahrelange Forscherarbeit war nötig, um den elektrochemischen Methoden in der analytischen Chemie jenen Platz einzuräumen, den sie heute innehaben.

Besonders die leichte Ausführbarkeit der elektrolytischen Verfahren, die Vermeidung vieler, zur Erzeugung von Niederschlägen nötigen Reagenzien, das Wegfallen von lästigen Filtrationen, die geringe Wartung und nicht zuletzt auch die Möglichkeit des Arbeitens mit einem und demselben Gefäß haben viel dazu beigetragen, daß sich dieser verhältnismäßig junge Zweig in der analytischen Chemie einer großen Beliebtheit erfreut.

Diese Vorzüge der Elektrolyse bedingten auch ihre besondere Eignung zur Anwendung in der Mikroanalyse. So konnte man ihr, gestützt auf die Erfahrungen, welche man seit der erstmaligen Anwendung des elektrischen Stromes zur Erzeugung von Metallniederschlägen gesammelt hatte, in ganz kurzer Zeit auch auf diesem Gebiete die gebührende Bedeutung verschaffen.

Das Verdienst, zum ersten Male die Mikroelektrolyse zu quantitativen Zwecken herangezogen zu haben, gebührt E. JÄNECKE[2]), der im Jahre 1904 eine Methode

[1]) Vgl. die vorl. Mitteilung im Anzeiger der Akademie der Wissenschaften, Wien, Sitzung der mathematisch-naturwissenschaftlichen Klasse vom 27. Nov. 1930.

[2]) JÄNECKE, Ztschr. analyt. Chem., **43**, 547 (1904).

veröffentlichte, welche die elektrolytische Bestimmung von Quecksilber im pathologischen Harn möglich machte. Unter Zuhilfenahme einer Nernst-Waage, deren Genauigkeit 0,01 mg betrug, gelang es, eine Menge von ungefähr 0,25 mg Quecksilber in einer Probe pathologischen Harns nachzuweisen.

Einige Jahre nach dem Erscheinen dieser Arbeit wurde von O. Brill und Miss Evans[3]) im Jahre 1908 die Elektrolyse zum quantitativen Studium einer Substanz benutzt, welche — anscheinend mit Antimon identisch — in Spuren im Thorianit enthalten war. Das unbekannte Metall stand ihnen in einer Menge von nur wenigen Milligrammen zur Verfügung. Mit Hilfe einer verfeinerten Nernst-Waage, welche die Anwendung von $^1/_3$ bis $^1/_2$ mg Substanz für jede Bestimmung möglich machte, erreichten sie ihren Zweck in zufriedenstellender Weise. Ausgeführt wurde die Elektrolyse in kleinen Porzellantiegeln, in welche die Elektroden, bestehend aus dünnen Platinfolien oder -spiralen, eingetaucht waren. Zur Erreichung einer genügenden Durchmischung des Elektrolyten leiteten die Autoren durch denselben einen langsamen Strom von Wasserstoff hindurch.

In der Veröffentlichung von F. Emich und J. Donau[4]) im Jahre 1909 wird eine Trennung von Silber und Kupfer behandelt, bei welcher das Kupfer elektrolytisch gefällt wird. Die Elektrolyse wird in einem Platintiegel ausgeführt, wobei dieser als Anode und ein eingehängtes Platinschälchen als Kathode dient.

Einen Schritt weiter in der Entwicklung bedeutet die im Jahre 1914 erschienene Arbeit von Böttger's Schüler R. Heinze[5]), welcher die Vorschriften der elektrolytischen Schnellmethoden zur Einzelbestimmung und Trennung von Metallen auf quantitative Mikrobestimmungen übertrug. Er führte Bestimmungen von Quecksilber sowie Trennungen von Quecksilber und Zink aus, und schied die Metalle auf einem Gold- oder Platindraht ab, der auf einem drehbaren Kathodenhalter aufgewickelt war.

Elektrolysen mit bewegten Elektrolyten führten auch E. H. Riesenfeld und H. F. Möller[6]) im Jahre 1915 aus, wobei sie, zum Unterschiede von Heinze, die Rührung mit bewegter Anode bewerkstelligten. Als Elektrolysiergefäß diente ein Becherglas, das zum Zwecke des kontinuierlichen Auswaschens mit einem Zu- und Abflußrohr versehen war. Sowohl bei Heinze als auch bei Riesenfeld und Möller werden die Wägungen auf der Nernst-Waage vorgenommen, wobei im letzteren Falle eine hochempfindliche Ausführung derselben zur Verwendung kam.

Größere Einwaagen als bei den bisher beschriebenen Verfahren benutzte F. Pregl[7]), als er zur Schaffung einer kürzeren und einfacheren Methode zur Ermittlung des Kupfergehaltes in Gemüsekonserven einen bequemen Apparat konstruierte, mit dem man bereits in 20 Minuten eine quantitative Metallabscheidung erreicht.

---

[3]) Brill und Evans, Journ. chem. Soc. London, **93**, 1442, C. (1908); II, 1760.

[4]) Emich und Donau, Monatsh. Chem., **30**, 755 (1909).

[5]) Heinze, Ztschr. angew. Chem., **27**, Aufsatzteil 237 (1914).

[6]) Riesenfeld und Möller, Ztschr. Elektrochem., **21**, 137 (1915). Siehe auch daselbst S. 131, bezw. C. 1915, I, 1227, 1240.

[7]) F. Pregl, Organ. Mikroanalyse, 142 (1917).

Benedetti-Pichler[8]) änderte das Verfahren in der Weise ab, daß es anstatt in schwefelsaurer auch in salpetersaurer Lösung ausführbar ist, und erweiterte dadurch das Anwendungsgebiet dieses Apparats.

In Anbetracht der guten Resultate, welche mit dem Pregl'schen Apparat erzielt wurden, lag es nahe, denselben auch zur Abscheidung anderer Metalle zu benutzen. So gelang damit K. Fuchs[9]) die Bestimmung von Gold, K. Neumann-Spallart[10]) von Silber und Zink, A. Verdino[11]) von Quecksilber, und C. Egg und A. Jung[12]) die Abscheidung von Silber.

Zu erwähnen wären schließlich noch zwei Arbeiten, die die Abscheidung von Blei als Superoxyd zum Gegenstand haben. Die eine (R. Lukas und Fr. Grassner[13]) betrifft die Untersuchung von destilliertem Wasser, Ammonkarbonat, Harnstoff, Formaldehyd, die andere (A. Seiser, A. Necke und H. Müller[14]) die Untersuchung von Blut.

Nach diesem kurzen Überblick über die Entwicklung der quantitativen Mikroelektroanalyse möchte ich zur Besprechung meiner Untersuchungen übergehen, die sich hauptsächlich auf die Ausarbeitung von quantitativen Elektrolysen erstreckten, bei denen Substanzmengen bis zu etwa 12 γ zur Anwendung gelangen sollten[15]).

1. Die Waage

beruht auf dem Prinzip der elektromagnetischen Kompensation, das bereits im Jahre 1895 von Knut Ångström verwendet wurde[16]). Sein Instrument, das einen Aluminiumbalken besaß, gestattete noch eine Menge von 0,001 mg zu wägen.

F. Emich hat sich mit der Verfeinerung dieser Waage befaßt und die Empfindlichkeit auf zirka das 100fache erhöht, so daß bei seinem Instrument die kleinste schätzbare Gewichtsmenge 0,015 γ = 0,000015 mg betrug.

---

[8]) Benedetti-Pichler, Ztschr. analyt. Chem., **62**, 321 (1923).

[9]) K. Fuchs, Mikrochemie, **I**, 86 (1923).

[10]) K. Neumann-Spallart, Mikrochemie, **II**, 157 (1924).

[11]) A. Verdino, Mikrochemie, **VI**, 5 (1928).

[12]) C. Egg und A. Jung, Mikrochemie, Pregl-Festschrift, 46 (1929).

[13]) Lucas und Grassner, Mikrochemie, **VI**, 130 (1928).

[14]) Seiser, Necke und H. Müller, Mikrochemie, **VII**, 270 (1929).

[15]) Es handelt sich also im wesentlichen um das „Gamma-, bezw. Dekagammaverfahren"; siehe F. Emich, Mikrochem. Praktikum, 2. Aufl., Verlag Bergmann, München, 1931, S. 44.

[16]) F. Emich, Abderhalden, Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden, Abt. I, T. 3, S. 259.

Diesem Modell war meine Waage nachgebildet. Ich will nun auf einige Einzelheiten eingehen, die erstens kleine, aber nicht unwichtige Änderungen betreffen und zweitens demjenigen, der sich für die Selbstanfertigung einer solchen Waage interessiert, Mühe und Ärger dadurch ersparen sollen, daß über die Ausführung der heikelsten Arbeiten, nämlich das Ansetzen der Häkchen und die Herstellung der feinen, als Schwingungsachse dienenden Quarzfäden, einige praktische Winke gegeben werden.

Der Balken erhielt die Form der Fig. 1, hatte in der Mitte

Fig. 1. Ansicht des Balkens.

einen Durchmesser von 1 mm und war an seinen Enden auf 0,5 mm Durchmesser ausgezogen. An einem der Balkenenden wurde ein Zeiger angesetzt, der mit dem Balken verschmolzen war. Ich benutzte dazu ein dünnes Quarzstäbchen von der Dicke der Balken-

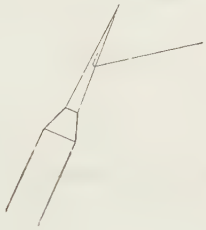


Fig. 2. Herstellung der Häkchen.

enden und bog es so, daß die auf zirka 3 μ ausgezogene Zeigerspitze die Verlängerung des Balkens bildete.

Zur Herstellung der Häkchen, welche zum Tragen des Gehänges bestimmt waren, verwendete ich Quarzfäden von 50 bis 60 μ im Durchmesser. Die häkchenförmige Gestalt gibt man ihnen, indem man sie seitlich in den Rand einer kleinen Sauerstoffgebläseflamme hält, wodurch das äußerste Ende der Fäden umgebogen wird (siehe Fig. 2).

Diese Häkchen, welche eine Länge von zirka 10 bis 12 mm haben, müssen so an dem Balken befestigt werden, daß sie, von den Schwingungen des Balkens unabhängig, stets in lotrechter Lage verharren. Man erreicht dies dadurch, daß man sie nächst den Ansatzstellen am Balkenende bis zu 2 bis 3 μ Dicke auszieht.

Zu diesem Zwecke werden die Häkchen zunächst an dem Balken angeschmolzen (siehe Fig. 3), hierauf mit einem kleinen Gewicht (z. B. mit einem kurzen Quarzstäbchen) belastet (Fig. 4a) und

Fig. 3. Häkchen, am Balken angesetzt.

Fig. 4a. Häkchen, mit Gewicht belastet.

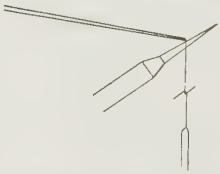


Fig. 4b. Erhitzen und Ausziehen des belasteten Häkchens.

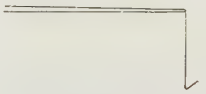


Fig. 5. Ausgezogenes Häkchen.

schließlich in der Nähe der Ansatzstellen durch öfteres, vorsichtiges Berühren mit dem Rand der kleinen Stichflamme erhitzt (siehe Fig. 4b).

Die erhitzte Stelle wird durch das angehängte Gewicht nach und nach zur gewünschten Stärke ausgezogen, und die Häkchen hängen nun frei beweglich an dünnen Fäden, die mit unbewaffnetem Auge nur schwer zu sehen sind (siehe Fig. 5).

Die Stärke solcher Fäden bestimmte ich nach der Methode von STRÖMBERG[17]), welcher feststellte, daß zwischen der Dicke und der Farbe, die diese Fäden im durchfallenden Lichte zeigen, ein Zusammenhang besteht.

Ist der Balken mit dem Häkchen und dem Zeiger ausgestattet, so wird er noch einer gründlichen Reinigung unterzogen, bevor er endgültig auf den Quarzfaden mit Selen angeschmolzen wird. Ich brachte ihn zu diesem Zwecke unter eine Glocke, in der sich ein Schälchen mit Brom befand. Im Bromdampf verblieb der Balken über Nacht, wurde dann mit Wasser und Alkohol abgespült und im Vakuum ein bis zwei Stunden getrocknet.

Die zweite Schwierigkeit, welche dem Anfänger viel Mühe bereitet, besteht in der Verfertigung der 2 bis 3 μ dünnen Quarzfäden, die den Balken zu tragen haben.

Das Ausgangsmaterial hierfür sind wieder 50 bis 60 μ starke

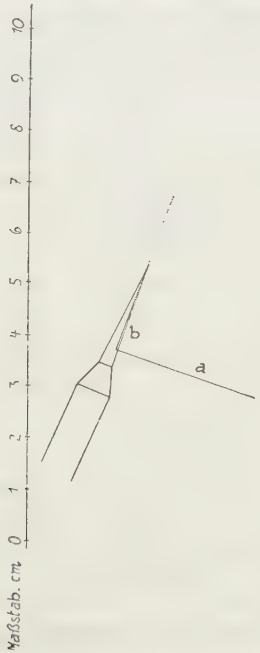


Fig. 6. Herstellung der dünnen Quarzfäden[17a]).

[17]) R. STRÖMBERG, Adsorptionsmessungen mit einer verbesserten Mikrowaage, Inaugural-Dissertation Universität Stockholm, Upsala 1928, Almqvist u. Wiksells.

[17a]) Der Maßstab gilt auch für die Fig. 1.

Quarzfäden, die man unter einem rechten Winkel in den Rand der kleinen Stichflamme hält (siehe Fig. 6), wobei der Faden an der Schmelzstelle abknickt. Wird nun der übrige Teil (a) des Fadens langsam in die Flamme nachgeschoben, so wird das abgelenkte Stück (b) immer länger, bis es schließlich durch den Gebläsestrom fortgerissen wird.

In diesem Moment entfernt man es rasch aus der Flamme, und der ursprünglich dickere Faden ist bis auf die gewünschte Feinheit ausgezogen. Es steht wohl kaum dafür, sich diese Fäden auf Vorrat anzuschaffen und sie unnötigerweise der Verschmutzung auszusetzen, man wird sie am besten gleich nach ihrer Herstellung aufmontieren.

Es hat sich als zweckmäßig herausgestellt, das Instrument noch mit einem größeren Gehäuse zu umgeben, um es vor Luftströmungen, die sich durch die Veränderung der Nullpunktlage unangenehm bemerkbar machen, zu schützen.

Dieser aus 8 mm dicken Eichenholzbrettchen angefertigte Schuztkasten war an zwei Holzleisten durch einige Messing-

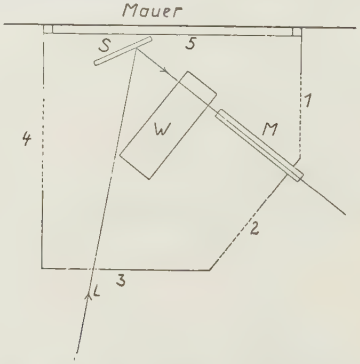


Fig. 7. Horizontalschnitt durch das Schutz- und Waagegehäuse in der Höhe des Mikroskoptubus.

1, 2, 3, 4, 5,	Wände des Schutzgehäuses.
5	Aluminiumschirm.
W	Waagegehäuse.
S	Spiegel.
M	Mikroskoptubus.
L	Lichtstrahl.

schrauben befestigt, besaß eine Höhe von 70 cm und hatte einen Querschnitt von nebenstehender Form (vergl. Fig. 7). Ein Aluminiumschirm[18]) bildete die fünfte Wand des Gehäuses und war so an den beiden Holzleisten befestigt, daß zwischen Mauer und Schirm eine Luftschichte von 1,5 cm bestehen blieb. Durch eine in der Seitenwand 1 angebrachte Türe erfolgte die Bedienung der Waage und zwei in Wand 4 und 2 ausgeschnittene Fenster gewährten einerseits eine genügende Beleuchtung des Kasteninneren und gestatteten anderseits die Beobachtung sämtlicher Handgriffe an der Waage. Die Beleuchtung des Gesichtsfeldes ermöglichte ein in Wand 3 befindliches Fensterchen, durch welches das Licht einer Deckenlampe eindrang. Ein Spiegel S reflektierte die Strahlen in die Richtung des Mikroskops M. Die Fenster waren aus dem wärmeabsorbierenden „Robonglas" (Schott & Gen., Jena) hergestellt. Nach Anbringung dieser Verbesserungen kamen größere Nullpunktsschwankungen normalerweise nicht mehr vor, sondern waren nur dann zu beobachten, wenn entweder ein schwereres Fahrzeug (z. B. Lastenauto, Straßenwalze) beim Gebäude vorüberfuhr oder ein Gewitter, bezw. ein stärkerer Wetterumschlag bevorstand. Im ersten Falle waren die Störungen nicht so unangenehm, da sie momentan auftraten und ebenso schnell wieder verschwanden. Im zweiten Falle hingegen konnte man fast immer eine langsame, stetige Änderung in der Nullpunktslage feststellen, und es dauerte oft ein bis zwei Stunden, bis der Zeiger seine frühere Lage wieder einnahm. Ob es sich dabei um luftelektrische Erscheinungen, magnetische Gewitter oder anderes handelte, konnte bisher nicht festgestellt werden. Die Brauchbarkeit der Waage wurde in der üblichen Weise durch Ausführung einer Anzahl von Rückstandsbestimmungen bewiesen. Die dabei benutzten Arbeitsschälchen, welche nach dem DONAU'schen Preßverfahren[19]) aus Platinfolie hergestellt wurden, hatten einen Durchmesser von 3 mm, eine Dicke von 0,003 mm und ein Gewicht von ungefähr 5 mg. Das Wägegut wog bis zu 25 γ; bei größeren Belastungen stellte sich labiles Gleichgewicht ein, wenn man sie durch einen geeigneten Strom zu kompensieren versuchte.

[18]) W. FELGENTRAEGER, Theorie, Konstruktion und Gebrauch der feineren Hebelwaage, Leipzig u. Berlin, Verlag B. O. Teubner, 1907, S. 251.

[19]) DONAU, Monatsh. Chem., 32, 31 (1911).

Eine Orientierung über die Größenordnung der verwendeten Substanzmengen wurde so erreicht, daß man 0,105 mg Merkurochromat auf der Kuhlmann-Waage abwog, dann verglühte und den verbleibenden Rückstand von 15 γ auf der elektromagnetischen Waage wog. Es ergab sich daraus die Beziehung, daß 1 Milliampere 0,55 γ entsprach. Da das Galvanometer 0,1 Milliampere abzulesen und 0,01 bis 0,02 Milliampere zu schätzen gestattete, betrug die kleinste schätzbare Gewichtsmenge 0,005 bis 0,01 γ.

Der Waagebalken besaß eine Schwingungsdauer von rund 17 Sekunden.

2. Metallbestimmungen durch Überführung in die Sulfate.

Bisher waren mit der elektromagnetischen Waage nur Rückstandsbestimmungen von Substanzen ausgeführt worden, welche durch bloßes Verglühen einen definierten Rückstand hinterließen. Nun sollte auch versucht werden, Metalle in organischen und anorganischen Salzen durch Abrauchen mit konz. Schwefelsäure als Sulfate zu bestimmen.

Die Arbeitsweise setzt sich der Reihe nach zusammen aus dem Einwägen der Substanz, dem Zusetzen der Schwefelsäure, dem Abrauchen derselben und dem darauffolgenden Glühen.

a) Das Einwägen von derart kleinen Substanzmengen machte im allgemeinen keine Schwierigkeiten. Ich brachte das Arbeits-

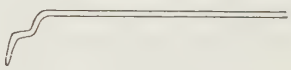


Fig. 8. Glasstäbchen zum Einbringen der Substanz.

schälchen auf ein Platinblech, das sich auf einem Präparierstativ befand, welches mit einer BRÜCKE'schen Lupe (Vergr. fünf- bis zehnfach) ausgestattet war. Auf dem Platinblech lagen einige Körnchen der Substanz, von der man unter Zuhilfenahme eines Glasstäbchens von häkchenförmiger Gestalt (Fig. 8) die erforderliche Menge in das Schälchen brachte. Die Körnchen haften leicht an der Glasspitze und werden am Schälchenboden abgestreift.

b) Das Einbringen der Schwefelsäure aus einer Kapillare ist

nach meinen Erfahrungen bei derart kleinen Substanzmengen nicht zweckmäßig, da der Tropfen sehr häufig zu groß ausfällt und über die Ränder des Schälchens tritt; auch bleibt gelegentlich das Schälchen an der Kapillare kleben und ist dann schwer ohne Substanzverlust wieder loszulösen.

Mit all diesen Widerwärtigkeiten hat man nicht zu kämpfen, wenn man auf folgende Weise verfährt:

Aus einer 1 mm dünnen Glaskapillare zieht man Glasfäden (Fig. 9) von 40 bis 60 μ Ø aus und setzt auf deren Spitze mit einer fein ausgezogenen Kapillare (Fig. 10) ein winziges Tröpfchen konz. Schwefelsäure (siehe Fig. 11). Berührt man nun damit

Fig. 9/10. Glasfaden und Glaskapillare zum Dosieren der Flüssigkeit.

Fig. 11. Aufsetzen des Flüssigkeitstropfens auf den Glasfaden.

den inneren Schälchenrand, so wird der Tropfen abgestreift und fällt in das Schälchen.

Nach dieser Methode gelingt es leicht, die Schwefelsäure in das Schälchen zu bringen, und da an verschieden starken Glasfäden nur Tröpfchen bis zu einer bestimmten Größe hängen bleiben, hat man auch gleichzeitig ein einfaches Mittel, die Schwefelsäuremenge zu dosieren.

Um bei diesen Manipulationen ein Umfallen des Schälchens zu verhindern, wird es auf einem Platinhäkchen aufgehängt (siehe Fig. 12).

c) Nun folgt das Abrauchen der Schwefelsäure, zu welchem Zwecke man das Schälchen in einem Porzellantiegel, auf einem Quarzhäkchen aufhängt und mit der Sparflamme eines Bunsenbrenners vorsichtig erhitzt. Nach zirka zwei bis drei Minuten ist die Schwefelsäure verflüchtigt und man kann allmählich stärker erhitzen.

Diese Bestimmungen wurden mit Weinstein, Natriumchlorid, Bleinitrat, weinsaurem Kalzium, ameisensaurem Blei und Bariumsulfat durchgeführt und hierfür eine durchschnittliche Substanzmenge von nur 4 γ verwendet. Bei Kalium- und Natriumsalzen wurde in bekannter Weise mit Ammoniak geräuchert.

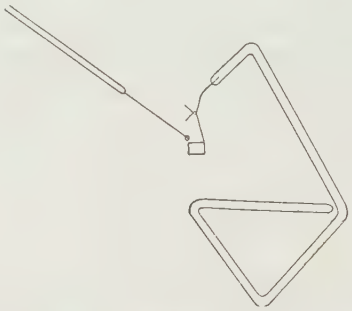


Fig. 12. Aufhängevorrichtung für das Schälchen.

In den Tabellen I und Ia sind die Resultate dieser Bestimmungen zusammengestellt, und zwar sind es Werte von hintereinander ausgeführten Analysen.

3. Die elektrolytischen Versuche.

Wir waren anfangs der Meinung, daß die Ausführung von Elektrolysen mit so kleinen Substanzmengen keine besonderen Schwierigkeiten bieten würde, dennoch traten sie im Laufe der Versuche auf und ihre Beseitigung verursachte viel Mühe.

Auch war ich bestrebt, möglichst einfache Apparate zu verwenden, um Fehlerquellen nach Tunlichkeit zu vermeiden.

Ursprünglich beabsichtigten wir, dieses Verfahren zunächst an Kupfersalzen auszuprobieren, um es später auch auf andere Metallionen auszudehnen. Die Vorarbeiten für einen geeigneten Apparat nahmen aber so viel Zeit in Anspruch, daß es mir nicht mehr möglich war, Elektrolysen mit anderen Metallen auszuführen.

Bei den ersten Elektrolysen wurden Glasgefäße von der Größe eines Mikrobechers als Elektrolysiergefäß verwendet, in welche ein Platinschälchen als Kathode und ein Platindraht als Anode eingehängt wurden. Wie aber zahlreiche Versuche zeigten, war auf diese Weise kein guter Erfolg zu erreichen, namentlich wiesen Blindversuche immer eine Gewichts z u n a h m e der Kathode auf; trotzdem waren die Resultate zu n i e d r i g.

Durch Verkleinerung der Gefäße suchte ich die angewandte Flüssigkeitsmenge

Tabelle I.

Substanz		Einwaage in γ	Galvanometerausschlag für die Einwaage		Galvanometerausschlag für die Auswaage		Gefundener Wert	Berechneter Wert
			in Teilstrichen	in Milliampere	in Teilstrichen	in Milliampere		
Weinstein	1)	8—9	86,2	17,24	39,0	7,79	20,3% K	20,8% K
	2)	12—13	129,0	25,80	59,6	11,9	20,7% K	
	3)	4—5	94,4	9,44	44,0	4,40	20,9% K	
	4)	3—4	71,0	7,10	32,6	3,26	20,6% K	
	5)	3—4	70,2	7,02	32,5	3,25	20,8% K	
Natriumchlorid	1)	3	61,5	6,15	75,0	7,50	39,5% Na	39,3% Na
	2)	1—2	31,9	3,19	38,7	3,87	39,3% Na	
	3)	2—3	49,0	4,90	60,1	6,01	39,7% Na	
	4)	3—4	73,6	7,36	88,9	8,89	39,1% Na	
	5)	2—3	57,5	5,75	69,8	6,98	39,3% Na	
Bleinitrat	1)	3—4	74,3	7,43	68,0	6,80	62,5% Pb	62,5% Pb
	2)	3—4	64,9	6,49	59,2	5,92	62,3% Pb	
	3)	2—3	45,9	4,59	42,1	4,21	62,7% Pb	
	4)	3—4	62,0	6,20	56,8	5,68	62,6% Pb	
	5)	2—3	40,4	4,04	37,2	3,72	62,9% Pb	
Ameisensaures Blei [1])	1)	3—4	78,6	7,86	80,3	8,03	69,8% Pb	69,7% Pb
	2)	2—3	42,5	4,25	43,5	4,35	69,9% Pb	
	3)	2—3	56,9	5,69	57,7	5,77	69,3% Pb	
	4)	3—4	72,0	7,20	73,5	7,35	69,8% Pb	
	5)	3—4	78,0	7,80	79,6	7,96	69,7% Pb	

[1]) Bei den mit [1]) bezeichneten Substanzen war mir die Zusammensetzung zunächst unbekannt.

Tabelle Ia.

Substanz		Einwaage in γ	Galvanometerausschlag für die Einwaage		Galvanometerausschlag für die Auswaage		Gefundener Wert	Berechneter Wert
			in Teilstrichen	in Milliampere	in Teilstrichen	in Milliampere		
Bariumsulfat[1]	1)	2—3	49,3	4,93	49,4	4,94	59,0% Ba	58,9% Ba
	2)	2—3	54,7	5,47	55,2	5,52	59,4% Ba	
	3)	3—4	60,9	6,09	61,3	6,13	59,2% Ba	
	4)	4—5	91,9	9,19	92,0	9,20	58,9% Ba	
Weinsaures Kalzium	1)	4—5	90,2	9,02	48,6	4,86	15,9% Ca	15,9% Ca[2]
	2)	4—5	89,0	8,90	49,1	4,91	16,2% Ca	
	3)	6	123,0	12,3	66,3	6,63	15,9% Ca	
	4)	3—4	71,6	7,16	38,7	3,87	15,9% Ca	
	5)	4—5	86,6	8,66	46,8	4,68	15,9% Ca	
Mohr'sches Salz[3]	1)	7	140,6	14,06	28,6	2,86	20,3% Fe_2O_3	20,3% Fe_2O_3
	2)	4	86,4	8,64	17,7	1,77	20,5% Fe_2O_3	
	3)	5	103,0	10,3	21,4	2,14	20,8% Fe_2O_3	
	4)	5	101,6	10,16	20,6	2,06	20,3% Fe_2O_3	

[1]) Bei den mit [1]) bezeichneten Substanzen war mir die Zusammensetzung zunächst unbekannt.

[2]) Dieser Wert wurde durch Ausführung einiger Rückstandsbestimmungen mit Hilfe der Kuhlmannwaage gefunden.

[3]) Durch Verglühen in Fe_2O_3 übergeführt.

zu verringern und eine genügende Durchmischung des Elektrolyten dadurch zu erreichen, daß ich im Elektrolysiergefäß eine dünne Platinspirale einbaute, die, durch niedergespannten Wechselstrom (Klingeltransformator) geheizt, den Elektrolyten in ständiger kochender Bewegung erhielt.

Die Resultate fielen nun meist zu hoch aus und auch die Blindversuche ergaben eine Gewichtszunahme des Schälchens; anscheinend zerstäubte die Heizspirale.

Ich stellte nun diese Versuche mit den Glasgefäßen einstweilen zurück und probierte einen neuen Apparat aus, der es möglich machte, die Elektrolysen in dem bisher als Kathode verwendeten Platinschälchen auszuführen. Der Vorteil dieser Apparatur bestand neben ihrer Einfachheit vor allem darin, daß man die früher verwendeten Flüssigkeitsmengen von zirka 1 bis 1½ ccm auf 10 bis 15 cmm herunterdrücken konnte; so wurden schließlich zufriedenstellende Resultate erhalten.

Der Apparat (siehe Fig. 13) besteht aus der Halte- und Aufhängevorrichtung des Schälchens und einem 0,1 mm dünnen, als Anode dienenden Platindraht, der zur leichteren Handhabung in

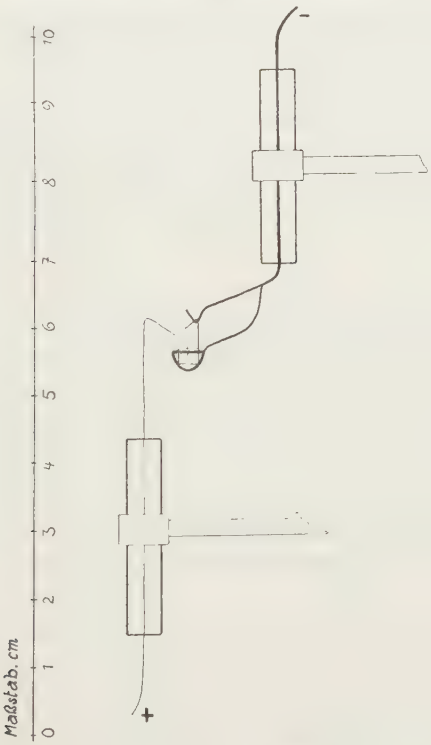


Fig. 13. Elektrolysierapparat.

einer dickwandigen Kapillare eingeschmolzen ist. Zur Herstellung der Haltevorrichtung wird ein 0,25 mm starker Platindraht * in einer dickwandigen Kapillare eingeschmolzen und seine Spitze zu einem Häkchen geformt. Zur besseren Fixierung des Schälchens befestigt man an Draht * durch Anschweißen ein Platinlöffelchen, dessen Stiel so gebogen wird, daß es lotrecht unter dem Häkchen, im Abstand des Schälchens, zu liegen kommt. Die beiden Bestandteile der Apparatur, Anode und Haltevorrichtung, werden an einem Stativ mit den Einschmelzkapillaren festgeklemmt und die frei aus diesen herausragenden Platindrähte mit Stromzuführungsdrähten verlötet.

Zur Ausführung einer Elektrolyse wurden in das bereits oben beschriebene Platinschälchen 2 bis 4 Körnchen eines Kupfersalzes eingewogen und in so viel Lösungsmittel aufgelöst, daß gerade das Schälchen damit angefüllt war. Das Einbringen von Flüssigkeit in die kleinen Schälchen erfolgte auf dieselbe Weise, wie ebenfalls oben bei den Rückstandsbestimmungen beschrieben wurde. Als Lösungsmittel diente tausendfach verdünnte Schwefelsäure.

Nach dem Füllen des Schälchens mit Lösungsmittel wird ersteres in den Löffel gesetzt und gleichzeitig auf dem oberhalb befindlichen Häkchen aufgehängt, wobei man bei dieser Art der Anbringung des Schälchens eine genügende Stabilität erreicht. Man nähert jetzt die Anode und stellt sie mit freiem Auge so ein, daß sich ihre Spitze knapp oberhalb des Schälchens befindet. Mit Hilfe einer Lupe besorgt man das etwas heikle Einsenken in die Flüssigkeit, wobei die Anode bis auf zwei Drittel der Schälchenhöhe eintauchen soll. Nun schließt man den Strom, welcher von einem einzelligen Bleiakkumulator geliefert wird und elektrolysiert bei zwei Volt Spannung 30 Minuten. An der Anode tritt anfänglich eine schwache Gasentwicklung auf, die aber bereits nach 3 bis 5 Minuten verschwindet. Das Schälchen, in dem sich das Kupfer als schön glänzender, festhaftender Niederschlag abscheidet, wird nach beendigter Elektrolyse bei gleichzeitigem Ausschalten des Stromes zuerst mit Alkohol, dann mit Wasser und nach dem Abheben von der Haltevorrichtung in einem Porzellantiegel noch einmal, und zwar zuerst mit Wasser und dann mit Alkohol gewaschen, bei 120 bis 125° C 5 bis 10 Minuten getrocknet und gewogen.

Tabelle II.

Substanz		Einwaage in γ	Galvanometerausschlag für die Einwaage		Galvanometerausschlag für die Auswaage		Gefundener Wert	Berechneter Wert
			in Teilstrichen	in Milliampere	in Teilstrichen	in Milliampere		
Kupfersulfat	1)	11	112,4	22,48	57,5	5,75	25,6% Cu	25,45% Cu
	2)	7—8	79,0	15,80	39,5	3,95	25,0% Cu	
	3)	9—10	92,4	18,48	46,5	4,65	25,2% Cu	
	4)	13	130,8	26,16	65,7	6,57	25,1% Cu	
	5)	10	101,9	20,38	52,0	5,20	25,5% Cu	
	6)	10	99,5	19,90	50,8	5,08	25,5% Cu	
	7)	9—10	97,1	19,42	49,2	4,92	25,3% Cu	
	8)	10—11	109,4	21,88	55,8	5,58	25,5% Cu	
	9)	10—11	107,9	21,58	55,4	5,54	25,7% Cu	
	10)	9—10	95,2	19,04	48,6	4,86	25,5% Cu	
	11)	8—9	84,8	16,96	43,3	4,33	25,5% Cu	
	12)	6—7	138,5	13,85	35,1	3,51	25,3% Cu	
Kupferrubidiumsulfat[1])	1)	10	107,6	21,52	26,0	2,60	12,1% Cu	11,89% Cu
	2)	11	112,7	22,54	26,3	2,63	11,7% Cu	
	3)	9—10	94,2	18,84	22,2	2,22	11,8% Cu	
	4)	11—12	116,0	23,2	28,6	2,86	12,3% Cu	
	5)	12—13	127,8	25,56	29,1	2,91	11,4% Cu	
	6)	9	91,0	18,20	21,5	2,15	11,8% Cu	
	7)	11—12	114,8	22,96	26,4	2,64	11,5% Cu	
	8)	8—9	88,6	17,72	20,6	2,06	11,6% Cu	
	9)	8—9	85,3	17,06	20,0	2,00	11,7% Cu	

[1]) Die Bestimmungen 1—3 wurden ausgeführt, ohne daß mir die Zusammensetzung der Substanz bekannt war.

Nach dieser Methode führte ich Elektrolysen von Kupfersulfat und Kupfer-Rubidiumsulfat unter Anwendung einer Substanzmenge von 7 bis 10 Gamma aus. Die dabei erzielten Analysenwerte sind in Tabelle II ersichtlich.

Nachwort von F. EMICH.

Die hier beschriebenen Versuche zeigen, daß es möglich ist, Rückstands- und verwandte Bestimmungen mit Materialmengen von 10 Gamma und weniger auszuführen, wenn die Auswaage etwa 20 bis 100% von der Einwaage ausmacht. Das ist natürlich nur ein Teil des einschlägigen Programms, denn wir wissen z. B. noch nicht, ob man auch bei kleineren Auswaagen gute Resultate erzielen wird, das heißt, ob die Proportionalität zwischen Stromstärke und Übergewicht auch in diesem Bereich besteht, oder ob man für solche Bestimmungen einer besonderen Eichkurve bedarf. Auch eine absolute Eichung wäre erwünscht, das heißt, wir sollten genau angeben können, welcher Galvanometerausschlag z. B. einem Gamma entspricht. Damit wären dann namentlich auch kombinierte Bestimmungen (z. B. Einwaage: Kuhlmann-Waage, Auswaage: elektromagnetische Waage) ermöglicht. Die gedachten Fragen könnten nur durch sorgfältig angestellte Versuchsserien entschieden werden, die sich auf einen längeren Zeitraum erstrekken und am besten in einem eisenfreien Raum gemacht werden sollten. Ob solche Versuche hier noch möglich sein werden, weiß ich nicht.

Aber es ist anzunehmen, daß die Resultate die aufgewandte Mühe lohnen würden. Man würde mit schnell und genügend genau arbeitenden Waagen den Bereich von z. B. 100 Gamma abwärts erfassen und sich damit erstens speziell in Fällen helfen können, in welchen nur außerordentlich kleine Substanzmengen verfügbar sind, und zweitens würden wir allgemein die Grenzen unseres experimentellen Könnens wieder nicht unerheblich erweitern. Sie blieben freilich noch immer von bedrückender Enge gegenüber der uns zugänglichen Welt.

Mit dieser Arbeit möchten wir Herrn Prof. BÖTTGER, dem wir sie anläßlich seines 60. Geburtstages widmen, eine kleine Freude bereiten.

Über mikrochemische Bilduntersuchung.

Von **Heinz Hetterich**, München.

(Eingelangt am 15. Juni 1931.)

In der „EMICH-Festschrift" der „Mikrochemie" habe ich in einer Abhandlung „Über die Anwendung mikrochemischer Methoden bei der Pigmentuntersuchung von Gemälden"[1]) an Hand von Beispielen darauf hingewiesen, daß wir durch Kombination mikrochemischer Nachweismethoden, und zwar der spezifischen Kristallfällungen und der Tüpfelreaktionen, in der Lage sind, einwandfreie Identifizierungen minimalster Farbproben vorzunehmen. Durch diese Anwendung der Mikrochemie wird ein bisher fast unerschlossenes und kaum bearbeitetes Gebiet der weiteren Forschung eröffnet.

Es soll zunächst betont werden, daß den oft sehr kostbaren Wertobjekten und unersetzlichen Gemälden nur geringste Substanzproben entnommen werden dürfen. Bis vor einigen Jahren konnte dieser Gesichtspunkt mangels geeigneter Reaktionsarten und Arbeitsmethoden nicht genügend beachtet werden, denn es ließ sich kaum vermeiden, daß durch analytische Untersuchungen häufig ernstliche Beschädigungen der Kunstwerke herbeigeführt wurden. Da aber Bilder mit Fehlstellen von jeher die größte Sorge von Galerieverwaltungen und Bilderbesitzern waren, sah man meistens davon ab, dem Chemiker zu gestatten, solche Schäden noch durch Entnahme von beträchtlichen Substanzmengen für wissenschaftliche Untersuchungen zu vermehren. Aus diesen Gründen fanden sich seither weder private Bilderbesitzer und noch viel weniger Staatsgalerien bereit, wertvolle Gemälde dem Chemiker zur Vornahme von Experimenten zu überantworten, von deren Folgen man sich offenbar aus Erfahrung die schlimmsten Vorstellungen machte. So erklärt es sich denn auch, daß die Forschungen über den stofflichen Aufbau, speziell der Tafelbilder, in den einzelnen Kunst- und Zeitepochen sowie in den einzelnen Schulen sich eigentlich noch im Anfangsstadium befinden und große Lücken zu verzeichnen haben. Wenn auch die Forscher auf diesem Gebiete, wie

[1]) H. HETTERICH, Mikrochemie, EMICH-Festschrift, 1930, S. 152.

unter andern besonders E. von Raehlmann[2]), A. Eibner[3]), A. P. Laurie[4]) W. Ostwald[5], der Lösung solcher Fragen durch Anwendung des Mikroskops für ihre Untersuchungen näher zu kommen suchten, so dürften ihre Methoden doch in chemischer Hinsicht — bei aller Bedeutung ihrer Ergebnisse — recht viele Mängel aufweisen. Einer einwandfreien Identifizierung sämtlicher mineralischen Pigmente unter weitestgehender Berücksichtigung geringster Substanzmengen konnten sie auf solche Weise allein nicht gerecht werden. Es ist auch darauf hinzuweisen, daß diese Forscher größtenteils ihre Untersuchungen an Wandbildern angestellt haben; da hier größere Substanzproben meist unbedenklich entnommen werden können, so liegen die Verhältnisse viel einfacher als bei den Tafelbildern. Das kürzlich erschienene Buch von A. M. de Wild[6]) behandelt zwar nur die Pigmentuntersuchung von Tafelbildern der holländischen und flämischen Schulen, wobei erstmals einige von H. Behrens[7]) gebrachte Kristallfällungen zur Identifizierung der Pigmente herangezogen werden. Es zeigt jedoch deutlich eine große Lücke. Denn über den Gegenstand „Bindemitteluntersuchung" ist darin nichts vorzufinden. Gerade dieses Gebiet, das zwar an die Bearbeiter die schwierigsten Anforderungen stellt, ist jedoch von der allergrößten Bedeutung für die Erkennung des sogenannten werkstofflichen Aufbaues der Bilder. Dieser erstreckt sich, besonders beim Ölbilde, vom Bildträger an über die Grundierung, die Untermalung, die Übermalung bis zum Schlußfirnis; Lagerung der einzelnen Schichten ist zunächst mikroskopisch an Querschnitten zu erfassen.

Die bei den Bildwerken verwendeten angeriebenen Farben bestehen aus zwei in ihren maltechnischen Funktionen wesentlich ungleichartigen Stoffgruppen: den Farbstoffen und den Bindemitteln.

Die angeriebenen Farben wirken als Gemische dieser verschiedenartigen Stoffe, und zwar jede Gruppe für sich mit verschiedener Bedeutung für den Bestand des Bildwerkes. Gerade was dessen Haltbarkeitsfrage allein betrifft, so sind hierfür die Bindemittel von viel größerer Bedeutung als die einzelnen Pigmente. Wenn auch schon die Farbstoffe verschiedenartige Verwendungsfähigkeit zeigen, so besitzen diese Eigenschaft noch viel mehr die Bindemittel. Diese allein sind in den verschiedenen Maltechniken die bestimmenden Elemente. Daher bezeichnet man die Malarten auch nicht nach den dort verwendeten Farbstoffen, sondern nach den Bindemitteln. So spricht man z. B. von der Temperamalerei, bei deren an-

---

[2]) E. von Raehlmann, Über die Maltechnik der Alten, Berlin 1910; Über die Farbstoffe der Malerei, Leipzig 1914.

[3]) A. Eibner, Entwicklung und Werkstoffe der Wandmalerei, München 1926; Entwicklung und Werkstoffe der Tafelmalerei, München 1928.

[4]) A. P. Laurie, Greek and Roman Painting, Cambridge 1910; The Painters methods and Materials, London 1926.

[5]) W. Ostwald, Ikonoskopische Untersuchungen, Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. z. Berlin, I, 1905, S. 167.

[6]) A. M. de Wild, The scientific examination of pictures, London 1929.

[7]) H. Behrens-Kley, Mikrochemische Analyse, 1915.

geriebenen Farben als Bindemittel Eigelbemulsionen. Gelatine-, Albumin- oder auch Kaseinlösungen verwendet werden, von der Aquarellmalerei, bei der wässerige Lösungen von Gummi, Glyzerin und Honig die bindenden Substanzen ausmachen können, oder auch von der Ölmalerei, jener sogenannten Erfindung der Gebrüder van Eyck in Flandern um das Jahr 1411. Der wissenschaftliche Streit über das Werkstoffliche der van Eyck-Technik wurde von fast allen Kunsthistorikern der letzten Jahrzehnte geführt und hat bis jetzt noch keine befriedigende Lösung gefunden. Heute finden bei der Ölmalerei Öle, wie besonders Lein- und Mohnöl, als Bindemittel Verwendung, denen als Zusätze Lösungen von Harzen, Wachs, Paraffin beigemengt sein können. Diese einzelnen Maltechniken sind aber erst dann bezüglich der Haltbarkeit der Werke auf völlig sichere Basis gestellt, wenn die Verwendungsfehler sämtlicher Bindestoffe restlos erkannt und beseitigt sind. Um dies jedoch erreichen zu können, wäre genaue Kenntnis über die chemische Zusammensetzung der hierbei verwendeten Stoffe in frischem Zustande nötig. Auch müßten Nachweisreaktionen und Identifizierungsmöglichkeiten dieser Substanzen zunächst einmal auf makrochemischem Wege möglich sein. Schließlich müßten diese Erkennungsmethoden in solchem Umfange eine Ausbildung erfahren, daß sie sich auch mit geringsten Substanzmengen anstellen ließen und demnach als mikrochemische Reaktionen anzusprechen wären. Es ist aber auch noch weiterhin für die Erforschung dieser Stoffe am Tafelbilde selbst zu bedenken, daß sie fast alle im Laufe der Zeit durch Autoxydation weitestgehende Veränderungen erleiden, über deren genauen Verlauf und deren Dauer bis zu einem endgültigen Stillstand wir noch nichts genaues wissen. Daher müßten auch diese, durch die sogenannte Alterung umgebildeten Produkte, ihrer chemischen Zusammensetzung nach, sowie ihre nun veränderten Löslichkeitsbedingungen und ihre Identifizierungsmöglichkeiten in weitestgehendem Maße erforscht und für die Untersuchung am Bilde selbst ausgebildet werden.

Es muß jedoch schon hier gesagt werden, daß wir heute noch nicht imstande sind, solche Fragen in erschöpfender Weise zu lösen. Wir kennen noch keine Identifizierungsmethoden von Leim, Eiweiß und Kasein im Bilde. Eine scharfe Unterscheidung zwischen Harzen und Linoxyn, das ist zum Film getrocknetes Leinöl, ist sogar makroskopisch nicht möglich. Noch weniger können wir im Ölbilde getrocknetes Lein-, Mohn-, Walnuß- und Abietineensamenöl neben- und voneinander erkennen und die einzelnen Stoffarten durch Reaktionen nachweisen. Es besteht auch noch keine Möglichkeit, Geigenharz von Mastix oder Dammar, Bernstein- von Copalcolophonium oder Copalivabalsam von venezianischem Terpentin durch chemische Reaktionen zu unterscheiden und in makrochemischer Weise nachzuweisen. Noch viel weniger gibt es Methoden, in einem Minimum von Substanz diese kompliziert aufgebauten Stoffe erkennen zu können. Sie im einzelnen hier durchzubesprechen, würde den Rahmen dieser Ausführungen überschreiten. Die vorstehenden Angaben dürften jedoch deutlich zeigen, wie mangelhaft heute noch das Wissen über diesen Gegenstand ist, trotz der hervorragenden Arbeiten, die in den letzten beiden Jahrzehnten unter anderen von C. Harries[8]),

[8]) C. Harries, Ann. **343**, 311 (1905); **374**, 288 (1910); **410**, 1 (1915); Ber. **39**, 37, 32 (1906).

E. Erdmann[9]), A. Eibner[10]), J. Scheiber[11]), A. Tschirch[12]) ausgeführt worden sind. Es muß hier noch viel Arbeit geleistet werden, um durch wissenschaftliche Untersuchungsmethoden die Bindemittel ebenso sicher feststellen zu können, wie es für Farbstoffe schon einwandfrei möglich ist.

Die naturwissenschaftlich-werkstofflichen Bilduntersuchungen gewinnen nach den verschiedensten Richtungen hin immer mehr an Bedeutung. Da es sich speziell bei der Tafelbilduntersuchung, wie schon erwähnt, im allgemeinen stets um Mindestmengen an bearbeitbarer Substanz handeln muß, so ist hierfür besonders die Mikrochemie unter Hinzuziehung von physikalischen und optischen Methoden von ausschlaggebender Bedeutung. Alsdann wären wir in der Lage, die Arbeitsart eines Künstlers nach der werkstofflichen Seite hin zu erforschen. Daraus würden wir genaue Kenntnis erhalten, mit welchen Bindemitteln, mit welchen Farben und in welcher Herstellungsart es dem alten Meister möglich war, Bilder zu schaffen, die oft viele Jahrhunderte ohne nennenswerten Schaden überdauert haben. Anderseits werden wir durch naturwissenschaftlich-werkstoffliche Forschungen imstande sein, genaue Auskunft darüber geben zu können, aus welchen Gründen aber auch Werke dieses oder jenes frühen Künstlers oft bis zur Unkenntlichkeit gelitten haben; eben, weil wir alsdann genau wissen, daß er mit Stoffen sein Werk hergestellt hat, durch die ein unfallfreies Arbeiten in keiner Weise gewährleistet werden konnte. Die Ergebnisse solch systematischer Forschungen und die immer lückenloser werdende Kenntnis über diesen Gegenstand der Malerei werden alsdann die Künstler unserer Zeit nicht im unklaren lassen, welche technische Behelfe zu verwenden sind, um die Grenzen eines Unfalles für ihre Bilder möglichst eng zu ziehen. Gerade die Werke bedeutendster Künstler des letzten Jahrhunderts haben gezeigt, wie diese Bilder infolge verlorengegangener Tradition und unsachgemäßer Herstellungsart, trotz Ausschaltens ungünstiger äußerer Einflüsse, in kurzer Zeit oft bis zur Unkenntlichkeit gelitten haben, Klagen, die immer wieder von Gemäldebesitzern und Galerieverwaltungen laut werden.

Auch für die heute fast nur noch fabrikationsmäßige Herstellung der Farben können die Untersuchungen Bedeutung gewinnen. Überkommene Berichte, alte Rezepte können durch Vergleichsuntersuchungen der bezüglichen Werke auf ihre Richtigkeit hin überprüft und, wenn brauchbar, nachgeahmt und für die Jetztzeit praktisch ausgewertet werden.

Gerade in letzter Zeit haben die Ergebnisse der naturwissenschaftlichen Werkstoffuntersuchung, da sie vollkommen objektiv sind, für die Beurteilung von Echtheitsfragen eines Bildwerkes immer mehr an Bedeutung gewonnen. Sie sind ein wertvolles Hilfsmittel hierfür geworden. Da sie zu jeder Zeit überprüft werden können, besitzen sie häufig auch einen forensischen Wert. Aus den ermittelten Zeitpunkten des Auftretens alter natürlicher Farben und aus den

[9]) E. Erdmann, Ber. **42**, 1324 (1909); Ber. **42**, 1334 (1909).
[10]) A. Eibner, „Über fette Öle", München, 1922.
[11]) J. Schreiber, „Farbe und Lack", 1925, 396.
[12]) A. Tschirch, Harze und Harzbehälter, Leipzig, 1906.

Literaturangaben über die erstmalige Herstellung von neuen synthetischen Farbstoffen in den verschiedenen Epochen, aus den Forschungsergebnissen über die Maltechniken der einzelnen Schulen und die Herstellungsarten von Werken namhafter Meister, aus genauen Studien über die Zeitdauer der Trocknungsvorgänge und der damit auftretenden Veränderungen der Bindemittel, aus den meist nach natürlichen Gesetzen auftretenden Sprung- und Rißbildungen, aus mikroskopisch-photographischen Aufnahmen, aus den Forschungsergebnissen der Wirkungen von Röntgen- und ultravioletten Strahlen auf Farbe und Bindemittel wird der Naturwissenschafter künftig wichtige, rein objektive Angaben über Herstellungsart und -zeit machen können. Sie bieten dem subjektiven Urteil des Kunsthistorikers wertvolle Hilfe und können mitunter richtungs- oder gar ausschlaggebend für eine Beurteilung sein. Damit werden aber auch den Fälschern, selbst bei größter Sorgfalt und raffiniertestem Vorgehen, immer größere Schwierigkeiten bereitet.

Die vorstehenden Ausführungen beleuchten hinreichend, mit wie großer Berechtigung und von welch umfassender Bedeutung die naturwissenschaftlichen Forschungen für die werkstoffliche Bilduntersuchung, Bilderhaltung und Bildherstellung sind. Dies ist auf dem Kongreß der Museumsleiter in Rom vom 13. bis 17. Oktober vorigen Jahres, der von dem beim Völkerbund gegründeten internationalen Institut für intellektuelle Zusammenarbeit einberufen war, besonders deutlich zum Ausdruck gekommen. Es wurden hier e r s t m a l i g zahlreiche Vorträge über naturwissenschaftlich-werkstoffliche Untersuchungen von Kunstwerken gehalten[13]).

Vor einigen Semestern wurde von mir an der Technischen Hochschule zu München im Institut des Herrn Geh. Rat Prof. Dr. A. Eibner, der Versuchsanstalt und Auskunftsstelle für Maltechnik, in enger Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. W. Gräff, Hauptkonservator an der Pinakothek, die systematische Bearbeitung dieses Gebietes in Angriff genommen[14]).

---

[13]) Z. B. W. Gräff, „Grundsätzliches über Gemäldeuntersuchung". — Die Naturwissenschaften 1931, 19. Jahrg., Heft 4.

A. Eibner, „Die Expertise. Beiträge zur Diskussion des Problems." Weltkunst, Jahrg. V, Nr. 3, 1931.

W. Gräff u. A. Eibner, Zusammenfassende Artikel im „Mouseion", organe de l office international des musées, Vol. 13—14, Paris 1931, S. 21 u. S. 70.

[14]) Die Ergebnisse dieser Zusammenarbeit bis zum Ende des vergangenen Jahres sind von mir im Manuskript „Zum Stand und zur künftigen Entwicklung der mikrochemischen Bilduntersuchung", Dissertation, T. H., München, zusammengestellt worden.

Hiernach haben wir die Möglichkeit, sämtliche Mineralfarben durch mikrochemische Analyse, unter Berücksichtigung der für Bilduntersuchungen geforderten Bedingungen, sicher nachzuweisen. Die Identifizierung von natürlich gewonnenen Lackfarbstoffen pflanzlichen und tierischen Ursprungs weist noch Mängel auf. Die größten Lücken jedoch zeigen, wie bereits betont wurde, die Untersuchungs- und Identifizierungsmöglichkeiten der Bindemittel. Doch brachten die Versuche, dieses Gebiet zu erschließen und geeignete Methoden für die Bilduntersuchung praktisch anwenden zu können, einige neue Ergebnisse, über die im nachfolgenden berichtet sei.

Zunächst möchte ich auf charakteristische Merkmale der bei den angeriebenen Farben als Bindemittel verwendeten Stoffe eingehen. Eine Einteilung nach diesen Gesichtspunkten hin erwies sich für die praktische Untersuchung als zweckmäßig, da sich hierdurch diese Substanzen in Gruppen einordnen lassen. Wenn auch die Bindemittel im einzelnen häufig aus Gemengen bestehen, deren Aufbau kompliziert und nicht scharf definierbar ist, so enthalten sie doch im Molekül zumeist typische Elemente, wie z. B. N, S, P, oder auch charakteristische Reste organischer Gruppen, die sich durch mikrochemische Reaktionen nachweisen lassen. Dadurch kann mit Sicherheit festgestellt werden, zu welcher Gruppe das zu prüfende Bindemittel gehört. Zur weiteren Kennzeichnung konnten alsdann Fällungs- und Farbenreaktionen herangezogen werden. Diese sind aber meist Gruppenreaktionen und noch zu wenig spezifisch für einen einzigen Stoff. Da jedoch von diesen Reagenzien häufig mehrere zur Verfügung stehen, von denen einzelne nur mit bestimmten Stoffarten reagieren, so ließen sich durch sinngemäße Kombination einigermaßen brauchbare Identifizierungen der Bindemittel ausarbeiten.

Die Anwesenheit, bezw. das Fehlen von Stickstoff im Molekül der Bindemittelsubstanz kann als ein charakteristisches Kennzeichen herangezogen werden. Dadurch ergibt sich eine Einteilung der Bindemittel in zwei Hauptgruppen. Zu den stickstoffhaltigen gehören der Hauptsache nach die Eiweißstoffe, wie das Eiweiß und das Eigelb selbst, Leim, Kasein, während zu den stickstofffreien die trocknenden Öle, wie

Lein- und Mohnöl, ferner Harze, Wachse, Stärke, Dextrin, Kirschgummi, arabischer Gummi und andere, gehören.

Der Nachweis von Stickstoff ist also für die eine der beiden Gruppen bestimmend. Er läßt sich mikrochemisch mit sehr kleinen Substanzmengen nach der von F. Emich[15]) angegebenen Methode sehr gut durchführen und beruht auf der Umsetzung des organisch gebundenen Stickstoffes mit luftzerfallenem Kalk zu Ammoniak, das alsdann nachgewiesen wird. Die Durchführung erfolgt durch Erhitzen einer Mischung der Substanzprobe mit dem Kalk in einer Kapillare, und der Nachweis der Ammoniakentwicklung erfolgt durch vorgelegtes Lackmuspapier oder Lackmuslösung. Einige tausendstel Milligramm Substanz, das ist ein gerade noch mit freiem Auge sichtbares Substanzteilchen, reicht zum Nachweis vollkommen aus. Viel größere Mengen sind nicht einmal ratsam, da eventuell stickstoffhaltige Verunreinigungen zu Täuschungen führen können. Das Anhaften kleiner Pigmentteilchen kann im allgemeinen nicht stören, da diese meist nicht stickstoffhaltig sind (ausgenommen Pariserblau, Indigo!).

Bei den stickstoffhaltigen Bindemitteln, wie besonders bei den Eiweißstoffen, ist meist noch als charakteristischer Bestandteil Schwefel im Molekül vorhanden, dessen Nachweis also weiterhin noch für diese Gruppe bestimmend sein kann. Die von E. Grünsteidl[16]) angegebene Methode kann hierfür sehr gut in Anwendung gebracht werden. Sie beruht bekanntlich auf der Überführung des Schwefels in das Sulfid durch Abrauchen mit NaOH im Porzellantiegelchen. Weiteres Abrauchen mit 0,1%iger KCN-Lösung bildet alsdann das Rhodanid, das auf Zusatz von Eisenchloridlösung die bekannte rote Farbe annimmt. Auch kann, nach Überführung des organisch gebundenen Schwefels in das Sulfid, die von F. Feigl[17]) beschriebene Jodazidreaktion angewendet werden. Besonders für die Identifizierung des Schwefels im Kasein muß dieser Nachweis gewählt werden, da hier auch noch in größeren Mengen Phosphor im Molekül vorhanden ist, wodurch die

[15]) F. Emich, Ztschr. f. analyt. Chem., **54**, 498 (1915); s. auch Mikrochemisches Praktikum 1931, S. 106.

[16]) E. Grünsteidl, Ztschr. f. analyt. Chem., **77**, 283 (1929).

[17]) F. Feigl, Ztschr. f. analyt. Chem., **73**, 321 (1928); **74**, 369 (1928). F. Raschig, Ber. **48**, 2088 (1915).

Eindeutigkeit des Rhodanidnachweises mit Eisenchlorid nach der Methode von GRÜNSTEIDL gestört würde.

Dagegen kann der Nachweis von Phosphor für die Feststellung von Kasein herangezogen werden. Zu diesem Zwecke erfolgt zunächst Oxydation des im Molekül enthaltenen Phosphors mit konzentrierter Schwefelsäure und Perhydrol zu Phosphorsäure[18]). Diese weist man mit salpetersaurer Ammonmolybdatlösung und Benzidin durch Bildung von Molybdän- und Benzidinblau nach[19]).

Da Kasein häufig als Bindemittel bei Wandmalereien Verwendung fand, so ist bei Substanzproben die Anwesenheit von Kieselsäure leicht möglich. Kieselsäure aber reagiert auch mit obigen Reagenzien, wodurch für den Phosphornachweis Irrtümer entstehen können. Durch Zusatz von Weinsäure zu der salpetersauren Ammonmolybdatlösung kann jedoch, wie F. FEIGL[20]) angibt, eine Störung durch Kieselsäure behoben werden, was insbesondere für den in Frage stehenden Fall von Belang ist.

Bei der Gruppe der stickstofffreien Bindemittel sind besonders wichtig die sogenannten fetten Öle. Sie bestehen aus den Glyzerinestern der Säuren $C_n H_{2n} O_2$ und $C_n H_{2n} 2O_2$. Als charakteristischen Bestandteil enthalten sie demnach im Molekül den Glyzerinrest, dessen Nachweis für diese Gruppe der Bindemittel bestimmend ist. Er beruht auf der Überführung des Glyzerinrestes in Acrolein. Man verfährt am besten so, daß man die zu prüfende Substanz mit etwas festem Alkali und Natriumbisulfat mischt und diese Mischung in einer Kapillare, wie sie beim Stickstoffnachweis verwendet wird, erhitzt. Die sich entwickelnden Acroleindämpfe weist man durch Rotfärbung einer entfärbten, vorgelegten fuchsinschwefligsauren Lösung nach. Diese bereitet man durch Lösen von 0,1 g Fuchsin und 0,7 g Natriumbisulfit in 88 g Wasser. Nach zirka einstündigem Stehen in einer Stöpselflasche gibt man zu der Lösung 25 Tropfen konzentrierte Schwefelsäure.

Als weiteres Nachweisreagens für die Acroleindämpfe kann eine wässerige Lösung von salzsaurem p-Nitrophenylhydrazin, der

[18]) H. LIEB u. O. WINTERSTEINER, Mikrochemie, **II**, 78 (1924).
H. LIEB, Quant. organ. Mikroanalyse von F. Pregl, 3. Aufl., S. 144.
[19]) F. FEIGL, Ztschr. f. analyt. Chem., **61**, 434 (1922); **74**, 387 (1928).
[20]) F. FEIGL, Ztschr. f. analyt. Chem., **77**, 299 (1929).

etwas verdünnte Essigsäure zugesetzt ist, verwendet werden. Von dieser Lösung saugt man etwas in eine enge Kapillare, die man in der weiten Kapillare der Substanzmischung vorlegt, so daß die beim Erhitzen gebildeten Acroleindämpfe durch die Reagenzlösung hindurchstreichen. Es scheiden sich alsdann in der engen Kapillare orangefarbene Nadeln und Sternchen des Osazones aus, die in der Küvette unter dem Mikroskop beobachtet werden können.

Weiterhin kann zur Prüfung dieser Substanzgruppe das von L. ROSENTHALER[21]) in modifizierter Form angegebene Verseifungsverfahren durch alkoholische Lauge herangezogen werden. Eine genaue Identifizierung von Lein-, Mohn- und anderen fetten Ölen läßt sich jedoch nicht erbringen, da alle diese Stoffe in ähnlichen Gebilden, wie Nadeln und Stäbchen, auskristallisieren, so daß eine Spezifizierung nicht möglich ist.

Im Bilde nun können die Bindemittel, je nach der Technik, vermischt vorkommen. Bei ihrem komplizierten und häufig noch nicht vollkommen erkannten Aufbau, bei ihren oft sehr verschiedenen Eigenschaften und späteren Auswirkungen, und nicht zuletzt durch das Fehlen spezifischer Reaktionen, ist die Aufgabe des Erkennens und genauen Identifizierens dieser Stoffe von bedeutender Schwierigkeit.

In dem nachfolgend angeführten Beispiel soll gezeigt werden, wie es trotzdem schon möglich ist, durch Kombination von Gruppen-, Fällungs- und Färbungsreaktionen einigermaßen befriedigende Bindemittelanalysen zu erstellen, durch die wir über den Aufbau und die Herstellungsart eines Werkes Kenntnis erhalten[22]).

Es handelte sich um die mikrochemische Untersuchung der Farbdecke einer Madonnenstatue aus dem Jahre 1620, von der unter anderen Teilen auch die blaue Farbe des Umhanges analysiert wurde.

In geeigneter Weise wurden dieser Farbschicht sehr kleine Farbproben entnommen und zunächst unter dem Mikroskop beobachtet.

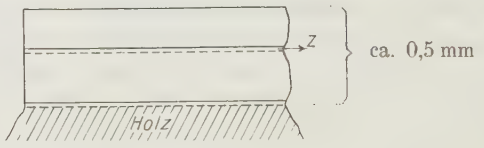
[21]) L. ROSENTHALER, Mikrochemie, **VII**, 72 (1930).

[22]) Für solche Untersuchungen erhielt ich durch Herrn Hofrat Prof Dr. F. EMICH während meiner Tätigkeit in seinem Grazer Institut wertvolle Anregungen, für die ich auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank aussprechen möchte.

Einige dieser abgenommenen Teilchen ließen, auf eine Kante gestellt, deutlich mehrere Schichten erkennen. Im ganzen konnten sechs Schichten beobachtet werden, von denen die beiden unteren aus weißer Farbe bestanden und die Grundierung bildeten. Darauf lagen drei durch Pigmente gefärbte blaue Schichten, welche die Übermalung darstellten; diese endlich trugen noch einen durchscheinenden, pigmentlosen, vergilbten Überzug. Es war möglich, solche Teilchen auszumustern, die sich nur aus den beiden weißen Farbschichten zusammensetzten, wodurch eine getrennte Untersuchung von Grundierung und Übermalung stattfinden konnte.

Die Grundierung.

Die abgenommenen Teilchen der Grundierungsschichten bestanden aus weißen Bröckchen, die, von oben besehen, eine grobporige Fläche besaßen. Auf die Kante gestellt, ließen sich unter dem Mikroskop deutlich zwei Schichten, in der nachstehenden Skizze a) mit I und II bezeichnet, beobachten. Sie unterscheiden sich durch verschieden starke Körnung und waren durch eine, an manchen Stellen gut sichtbare, schmale Zone (Z) getrennt. Die Fläche der unteren Schichte I, die direkt mit dem Holz verbunden war, zeigte verschiedentlich noch braune Überzugsstellen. Der Querschnitt dieser Schicht war größer als der von der daraufliegenden Schicht II. Die Gesamtdicke beider Schichten betrug zirka 0,5 mm.



Skizze a.

Lösungsversuche: In kaltem Wasser trat starke Quellung der braunen Zwischenlage und der Überzugsstellen von Schicht I auf. Auch waren Quellungen in der Fläche selbst zu beobachten, die vom Bindemittel herrührten. Die Farbteilchen rückten auseinander; eine Lösung der braunen Bindemittelstellen trat nicht ein. Erst beim Erwärmen gingen die gequollenen braunen Teilchen allmählich in Lösung. Nach dem Eindampfen des Was-

sers hinterblieb ein brauner, wallartiger Ring. In verdünnter HCl lösten sich, besonders beim Erwärmen, die weißen Farbteilchen unter Gasentwicklung, während die braunen Stellen hierbei verschmierten. Sie koagulierten und bildeten eine Randwölbung, die im auffallenden Licht unter dem Mikroskop dunkel, im durchfallenden transparent und von gelblicher Farbe war. Mit KOH lösten sich nur die braunen Stellen recht gut heraus. $(NH_4)_2S$-Lösung gab keine Reaktion.

Die Bindemitteluntersuchung.

Mit der früher angeführten und von F. Emich[23]) beschriebenen Methode konnte die Anwesenheit von Stickstoff in der organischen, braun gefärbten Bindesubstanz nachgewiesen werden. Das hier verwendete Bindemittel gehörte also zu der stickstoffhaltigen Gruppe.

Eine Prüfung der Teilchen auf das Vorhandensein von Schwefel ergab mit den von E. Grünsteidl[24]) und F. Feigl[24]) angegebenen Methoden kein einwandfreies Resultat. Phosphor und Glyzerinrest, mit den oben angeführten Methoden geprüft, konnten nicht nachgewiesen werden.

Färbungs- und Fällungsreaktionen:

Biuretprobe:

Einige pigmentfreie Teilchen der braunen Zwischenzone wurden einige Zeit mit 0,5%iger wässeriger Kupfersulfatlösung auf dem Objektträger digeriert. Nach dem Absaugen dieser Lösung und dem Nachwaschen mit wenig Wasser färbten sich die Substanzteilchen auf Zusatz von KOH (spezifisches Gewicht 1,18) deutlich violett.

Die Xanthoproteinreaktion:

Auf Zusatz von konz. HNO_3 färbten sich die braunen Teilchen gelb. Nach dem Absaugen der HNO_3 trat auf NH_3-Zusatz Farbumschlag von Gelb nach Rotbraun ein.

[23]) F. Emich, siehe Fußnote 15.

[24]) E. Grünsteidl, siehe Fußnote 16; F. Feigl, siehe Fußnote 17.

Säuregrün:

Die sauer reagierende Lösung von Methylgrün färbte schon in der Kälte die Probeteilchen grün an.

Jodeosin:

Auch diese alkalisch reagierende Lösung des Tetrajodfluorescein zeigte schon in der Kälte Rotfärbung der Teilchen, die sich nicht auswaschen ließ.

Millon's Reagens:

Dieses Reagens, das man sich durch Lösen von 1 ccm Quecksilber in 9 ccm konz. HNO_3 (spezifisches Gewicht 1,52) und durch Versetzen mit einem gleichen Volumen Wasser bereitet, zeigte keine Reaktion.

Alkoholische Alkannalösung:

Keine Anfärbung der Substanzteilchen.

Gerbsäure:

Auf Zusatz von Gerbsäure zu einer im Spitzröhrchen in heißem Wasser gelösten Probe fiel ein flockiger Niederschlag aus, der sich auf $(NH_4)_2$-Zusatz löste. Hierdurch unterscheiden sich Gerbsäurefällungen der Bleisalze, da diese sich mit $(NH_4)_2S$ braun färben, worauf bei solchen Farbuntersuchungen zu achten ist, um Irrtümer zu vermeiden.

Beim Erhitzen auf dem Glimmerplättchen verkohlte die Substanz, wobei der für Eiweißstoffe charakteristische Geruch auftrat.

Zusammenfassung der bisherigen Untersuchungsergebnisse:

Der Nachweis von Stickstoff, das Verhalten gegen kaltes und heißes Wasser, der typische Geruch beim Verbrennen, sowie der positive Ausfall der Biuret- und Xanthoproteinreaktion ergaben, daß das verwendete Bindemittel ein Eiweißstoff war. Durch diese für Eiweißstoffe charakteristischen Ergebnisse sowie durch den

negativen Verlauf des Glyzerinnachweises kam das Vorhandensein eines trocknenden Öles nicht in Frage, was auch noch durch das Ausbleiben einer Anfärbung durch Alkannalösung Bestätigung fand.

Die Quellungserscheinung in kaltem, die Löslichkeit in warmem Wasser sprachen für die Anwesenheit von Leim, der sich bekanntlich in Wasser so verhält. Eiweiß würde sich bei gleicher Behandlung entweder lösen oder koagulieren, während Kasein in jedem Falle unlöslich wäre.

Millon's Reagens, das wohl nur mit tyrosinhaltigen Stoffen, wie Eiweiß, Eigelb und Kasein, in roter Anfärbung reagiert, bestätigte durch sein Versagen die Anwesenheit von Leim, der als einer der wenigen hier in Frage kommenden Eiweißbindemittel kein Tyrosin enthält.

Das Anfärben durch Säuregrün und Jodeosin schon in der Kälte war weiterhin charakteristisch für Leim; Eiweiß reagiert mit beiden Reagenzien erst nach der Koagulation, das heißt, also erst nach dem Erwärmen; Kasein wird nur durch Säuregrün angefärbt.

Für das Vorhandensein eines anderen Bindemittels lagen keine Anzeichen vor, so daß n u r L e i m in beiden Schichten verwendet worden war.

Die Pigmentuntersuchung.

Die beim Behandeln mit verdünnter HCl entstehende Gasentwicklung konnte mit der von F. Feigl[25]) angegebenen Methode geprüft, als CO_2 identifiziert werden. Durch Ausmustern konnten Farbteilchen von jeder der beiden Schichten getrennt untersucht werden. Bei Schicht I ergab alsdann die Identifizierung die Anwesenheit von Ca, SO_3 und CO_2, während als Bestandteile der Schicht II Ca und CO_2 in der üblichen Weise bestimmt wurden.

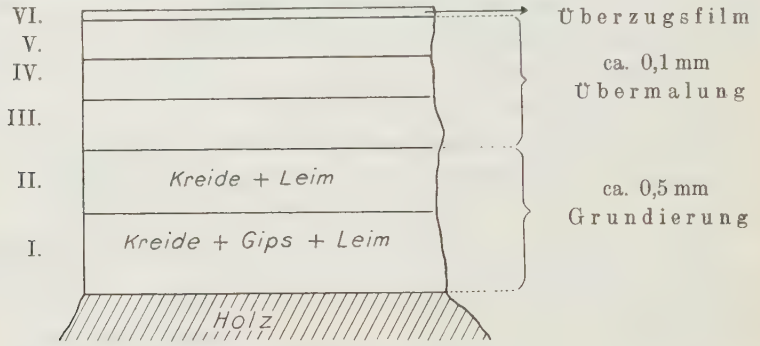
Der chemischen Zusammensetzung nach bestand Schicht I aus Calciumcarbonat und Calciumsulfat; es war also eine Mischung von K r e i d e u n d G i p s verwendet worden.

Schicht II bestand aus Calciumcarbonat, also nur aus K r e i d e.

[25]) F. Feigl, Mikrochemie, **VIII**, 134 (1930); vgl. auch H. Hetterich, Mikrochemie, Emich-Festschrift, 1930, S. 156.

Die Übermalung.

Um hier die Schichtung genauer feststellen zu können, wurde ein besonders geeignetes Probeteilchen unter dem Mikroskop im Querschnitt beobachtet. Zunächst waren wieder die eben behandelten beiden weißen Grundschichten festzustellen. Auf diesen lag die Übermalung in drei durch Ton und Korngröße der Pigmentteilchen verschieden blau gefärbten Schichten III, IV und V. Ihre Dicke betrug zusammen zirka 0,1 mm. Eine sehr dünne durchscheinende Schicht VI von gelblicher Färbung, jedoch ohne Pigment, konnte als Schlußschicht festgestellt werden. Sie dürfte wohl ein Überzugsfirnis sein (Skizze b).



Skizze b.

Durch das Übereinanderlegen mehrerer Farbschichten verfolgte der Künstler wohl den Zweck, die Wirkung der oberen Farben durch die darunterliegenden in vorteilhafter Weise zu beeinflussen (Lasurtechnik).

Lösungsversuche:

Beim Behandeln mit Wasser trat in der Kälte wieder Quellung der Schichten I und II auf. Schicht III zerfiel nach einiger Zeit vollkommen. Hier löste sich das Bindemittel heraus und die Farbteilchen schwammen ohne Zusammenhang im Lösungsmittel. Selbst nach längerem Behandeln mit kaltem Wasser blieben die Schichten IV, V und VI unverändert und fest miteinander verbunden.

Eine mechanische Trennung der Schichten I, II und III von den Schichten IV, V und VI war mit der Präpariernadel möglich. Diese drei durch kaltes Wasser nicht zu trennenden Schichten wurden nun mehrere Stunden lang im Spitzröhrchen mit Wasser im Badaufsatz erhitzt. Erst dann ergaben sie einen wässerigen Bindemittelauszug. Trotzdem behielten aber diese drei Schichten ihren Zusammenhang, woraus zu schließen war, daß nur ein Teil der Bindemittelsubstanz herausgelöst wurde. Sie zeigten sogar nach dieser Behandlung recht intensiv braun gefärbte Verschmierungen, die vorher nicht so deutlich zu beobachten waren. Mit verdünnter Salzsäure, besonders beim Erwärmen, lösten sich die Pigmentteilchen sämtlicher Schichten unter heftiger Gasentwicklung auf: braune Verschmierungen vom Bindemittel blieben zurück.

Beim Behandeln aller Schichten mit $(NH_4)_2S$-Lösung färbten sich die Schichten III und V braun, während die übrigen hierdurch nicht nennenswert beeinflußt wurden.

Bindemitteluntersuchung.

Eine Prüfung einiger Probeteilchen der Übermalung auf Stickstoffgehalt verlief ohne Kalkzusatz negativ; dagegen konnte in einer Mischung der Probe mit Kalk, der im Blindversuch auf Stickstofffreiheit vorher geprüft worden war, nun die Anwesenheit von Stickstoff im Bindemittel einwandfrei nachgewiesen werden. Auch in den braunen Verschmierungen, die nach Behandeln mit verdünnter HCl koaguliert zurückblieben, war Anwesenheit von Stickstoff auf die gleiche Weise feststellbar. Es lag also zum mindesten in einer der Übermalungsschichten ein Bindemittel vor, das zu der stickstoffhaltigen Gruppe gehörte.

Das Vorhandensein von S c h w e f e l konnte zwar nachgewiesen werden, doch war diese Feststellung nicht einwandfrei für einen Bestandteil des Bindemittels anzunehmen, da noch anhaftende schwefelhaltige Pigmentteilchen die Ursache sein konnten.

F ä r b u n g s- und F ä l l u n g s r e a k t i o n e n :

Der koagulierte Rückstand wurde weiterhin untersucht: Die X a n t h o p r o t e i n r e a k t i o n verlief p o s i t i v. Die B i u-

retprobe zeigte Violettfärbung. Millon's Reagens färbte rot.

Säuregrün und Jodeosin wirkten nur auf die koagulierten Teilchen, nicht aber auf die wässerigen Auszüge. Diese gaben mit Gerbsäure Fällung, die sich in $(NH_4)_2S$ löste.

Aus diesen und aus den vorhergehenden Befunden ergab sich, daß Eiweiß als Bindesubstanz zum mindesten in einer der Schichten IV, V und VI verwendet war. Es handelte sich nun darum, herauszubekommen, welche dieser Schichten Eiweiß enthielt. Auch war zu ermitteln, ob noch ein anderes Bindemittel vorlag und welcher Art dieses wäre.

Beim Behandeln mit Alkanna färbten sich die drei Schichten IV, V und VI rot, wobei jedoch die Schichten V und VI entschieden mehr Farbstoff aufnahmen und stärkere Rotfärbung zeigten.

Kanadabalsam löste nach längerem Einwirken die Schichten V und VI auseinander, während Schicht IV im wesentlichen unverändert blieb. Daraus war zu schließen, daß Schicht IV ein einheitliches Bindemittel hatte, während die Schichten V und VI eine andere, aber unter sich gleiche Bindesubstanz enthielten.

Diese Feststellungen wurden auch dadurch bestätigt, daß nach längerem Behandeln mit Äther nur die Schichten V und VI einen Auszug gestatteten, während bei Schicht IV keine nennenswerte Lösung des Bindemittels erfolgte.

Eine nochmalige Prüfung der unverändert gebliebenen Teilchen von Schicht IV mit den schon oben angeführten Reaktionen bestätigte, daß das Bindemittel dieser Schicht nur Eiweiß war.

Der Ätherauszug aus den Schichten V und VI wurde mit einer sehr verdünnten wässerigen Lösung von Methylviolett behandelt. Nach dem Verdunsten des Äthers blieb ein violett gefärbter Rückstand, dessen Färbung sich nicht auswaschen ließ.

Diese Tatsachen sowie die Rotfärbung durch Alkanna und die Löslichkeitsverhältnisse sprachen dafür, daß die beiden Schichten V und VI ein Öl, vielleicht auch eine ölreiche Tempera, als Bindemittel enthielten. Ein einwandfreier Glyzerinnachweis konnte allerdings nicht erbracht werden.

Durch diese Feststellungen würde wohl auch der obige Befund, daß beim Stickstoffnachweis der gesamten Schichten der Über-

malung ohne Kalkzusatz ein Versagen eintrat und erst in Mischung hiermit erfolgte, eine Erklärung finden können. Denn die sauren Destillationsprodukte des vorhandenen fetten Öles dürften hierbei die alkalisch reagierenden des Eiweiß neutralisiert haben.

Daß eine derartige gemischte Technik vorliegen konnte, wird in CENNINO CENNINIS[26]) Traktat in ähnlicher Weise beschrieben.

Schon die Lösungsversuche mit Wasser zeigten, daß das Bindemittel von Schicht III ganz anderer Natur sein mußte. Die wässerige Lösung hiervon gab auf Alkoholzusatz eine körnige Fällung. Nach dem Eindampfen der wässerigen Lösung zeigte der Rückstand unter gekreuzten Nikols Aufhellung. Mit 4%iger Orcinlösung und wenig konz. Salzsäure erfolgte eine blaue Anfärbung.

Alkohol und Äther lösten, selbst bei längerer Behandlung, nicht.

Aus diesen Befunden ergab sich, daß das Bindemittel der Schicht III Gummi war; es dürfte sich wohl um arabischen Gummi handeln.

Die Pigmentuntersuchung.

Schicht III: Hier lag eine Mischung von weißen und blauen Farbteilchen vor. Nach dem Ausmustern wurden die weißen Teilchen als Bleiweiß, die blauen als Azurit in der üblichen Weise identifiziert[27]).

Schicht IV: Sie bestand aus groben Farbteilchen von unterschiedlicher Größe (20 bis 40 μ). Im durchfallenden Licht waren es transparente blaue Splitter mit farblosen Einfügungen, die unter gekreuzten Nikols Aufhellung zeigten. Verdünnte Essigsäure wirkte nicht erheblich ein, gesättigte Alaunlösung dagegen entfärbte.

Mit den bereits angegebenen Methoden konnte Schwefel nachgewiesen werden. Es lag hier als blaue Farbe natürlicher Ultramarin oder Lapislazuli vor.

Schicht V: Es konnten Cu und CO_2 identifiziert werden; diese Schicht enthielt also wieder Azurit.

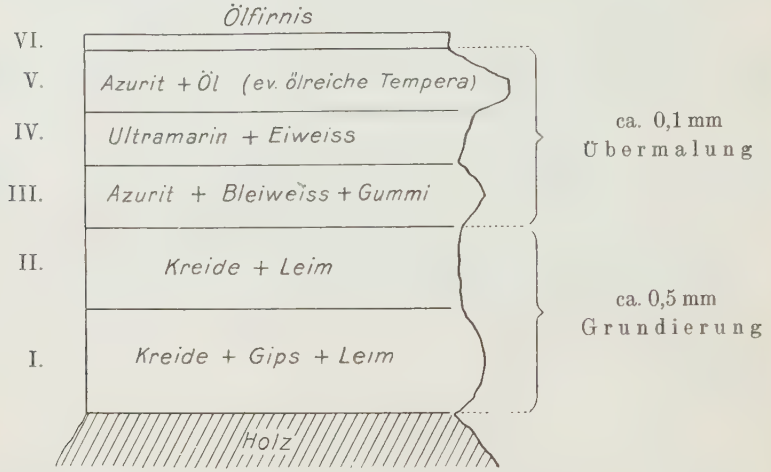
Schicht VI war pigmentfrei.

Die blaue Bemalung des Umhanges war also, wie man auf den

[26]) Siehe BERGER's Beiträge, Malerei des Mittelalters, S. 116 u. ff., München 1897.

[27]) H. HETTERICH, vgl. Mikrochemie, EMICH-Festschrift, 1930, S. 152 ff.

ersten Blick vielleicht meinen könnte, nicht eine einzelne Farbschicht, sondern es ergab sich durch die mikroskopische und mikrochemische Untersuchung folgendes, recht komplizierte Bild des Aufbaues:



Skizze c.

* * *

Die vorstehenden Befunde zeigen, daß die prinzipielle Möglichkeit besteht, auf mikroanalytischem Wege Bindemitteluntersuchungen an Gemälden praktisch anzustellen. Die noch bestehenden Mängel dürften jedoch hinlänglich zeigen, daß an dem Ausbau der naturwissenschaftlichen Gemäldeuntersuchung noch viel Arbeit zu leisten ist, um auch bei den Untersuchungen der Bindemittel jenen Grad der Sicherheit zu erreichen, den der Analytiker bei den Pigmentuntersuchungen dank der bisherigen mikrochemischen Methoden zu verbürgen imstande ist. Diesbezügliche Untersuchungen sind im Gange.

Zur Analyse sehr kleiner Mengen von Morogoro-Uraniniten.

Ein Beitrag zur Mikromineralanalyse.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von **Friedrich Hecht**, Wien.

Aus dem Analytischen Laboratorium der Universität Wien[1]).

(Eingelangt am 17. Juli 1931.)

Anläßlich der kritischen Untersuchung der sogenannten „Bleimethode" der Altersbestimmung an radioaktiven Mineralien ergab sich bei der derzeit im Gange befindlichen Bearbeitung der Uraninite von Morogoro[2]) im ehemaligen Deutsch-Ostafrika die Notwendigkeit der Einführung einer Mikromethode, da die zur Verfügung stehenden Mineralmengen für Makroanalysen zu gering waren, da sich herausgestellt hatte, daß die Morogoro-Uraninite durchaus nicht homogen zusammengesetzt sind, woraus sich die Notwendigkeit ergab, die einzelnen Partien (Schichten) getrennt zu analysieren. Da anderseits auf möglichst große Genauigkeit Wert gelegt werden mußte, wurde davon abgesehen, die Analyse mit ganz kleinen Einwaagen durchzuführen, und es ergab sich als deren Optimum eine Menge von etwa 20 bis 30 mg. Da die einzelnen Bestandteile des Erzes nur in Mengen von einigen Zehntelprozenten bis zu einigen Prozenten vorhanden sind, mit Ausnahme des Urans, welches den Hauptbestandteil bildet, schien der

[1]) Herrn Prof. Dr. A. Franke, an dessen Institut die vorliegende Arbeit durchgeführt wurde, sei für seine stete entgegenkommende Unterstützung und sein freundliches Interesse wärmstens gedankt.

[2]) F. Hecht, Mitt. Inst. Ra-Forschung, Wien 1931.

Versuch ausführenswert, die Analyse vollkommen mit mikrotechnischen Hilfsmitteln durchzuführen, zumal auch das Uran mikrochemisch bestimmbar ist. Es wurde von vornherein darauf Wert gelegt, die Analyse möglichst mit einer Einwaage (mit Ausnahme der Feuchtigkeitsbestimmungen), das heißt in einem Arbeitsgange vorzunehmen.

Die Grundlage des verwendeten Analysenganges bot mit einigen Abänderungen eine Methode, die sich bereits früher bei der Makroanalyse der Morogoroerze[3]) bewährt und seither einige Verbesserungen erfahren hatte. Es stellte sich heraus, daß bei Anwendung der oben genannten Einwaagen eine solche prinzipielle Übertragung in die Mikrotechnik durchaus möglich war und zufriedenstellende Resultate lieferte. Herrn Privatdozenten Dr. R. Dworzak und Herrn Dr. W. Reich-Rohrwig, deren Erfahrungen und Ratschläge mir hierbei sehr zustatten kamen, möchte ich hierfür meinen Dank aussprechen.

Der Analysengang war folgender: Ein normaler Platintiegel von möglichst geringem Gewicht wurde samt einem porösen Platintauchfilter nach F. Emich gewogen, dann wurde die Einwaage in den Tiegel gebracht, abermals (samt dem Filter) gewogen, hierauf das Filter beiseitegestellt, das Mineral mit etwa 15 Tropfen Salpetersäure (1 : 4) übergossen und auf dem Wasserbad in wenigen Minuten gelöst, wobei der Platintiegel in einen der üblichen, nach oben sich verjüngenden Glasaufsätze gestellt wurde. Hierauf wurde mit Hilfe einer Kapillare und Absaugglocke nach J. Donau[4]) die Flüssigkeit durch das vorher mitgewogene Filter unter drei- bis viermaligem Waschen mit wenig heißem Wasser in einen (samt einem Platinfilter) gewogenen Platintiegel übergesaugt und dort durch Eindampfen zur Trockene und mehrmaliges Abrauchen mit einigen Tropfen Salpetersäure die Kieselsäure abgeschieden. Der erste Platintiegel samt Filter wurde einige Minuten im elektrischen Ofen bei etwa 1000° geglüht und hierauf gewogen. Die Differenz ergab den in Salpetersäure unlöslichen Rückstand, der zum Teil aus Beimengungen von Erdsäuremineralien (Niobaten, Tantalaten usw.), zum Teil aus Kieselsäure zu bestehen pflegt.

[3]) E. Körner und F. Hecht, Monatsh. Chem., **49**, 438 (1928).

[4]) Siehe F. Emich, Lehrbuch der Mikrochemie (1926).

Das eingedampfte Filtrat wurde mit 3 Tropfen konz. HNO_3 und etwa 1,5 ccm heißem Wasser aufgenommen und durch das vorher mitgewogene Platinfilter in das Elektrolysengefäß der PREGL'schen Elektrolysenapparatur gesaugt und drei- bis viermal mit wenig heißem Wasser nachgewaschen. Sodann wurden noch 0,5 bis 0,6 ccm konz. HNO_3 zugesetzt und auf etwa 6 ccm verdünnt und unter gelindem Sieden bei 2,2 bis 2,3 Volt und 0,3 bis 0,5 Ampère das Blei auf der als Anode geschalteten Drahtnetzelektrode als Superoxyd abgeschieden. Die Dauer der Elektrolyse betrug etwa $1^1/_2$ bis 2 Stunden. Gegen Ende wurden einige Milligramm Harnstoff[5]) zugesetzt, um die etwa entstandene salpetrige Säure auf alle Fälle zu zerstören. Die Flüssigkeit wurde mittels der erwähnten Filtrierapparatur in einen (samt Platinfilter) gewogenen, geräumigen Platintiegel abgehebert, jedoch nicht auf einmal völlig, sondern unter zwei- bis dreimaligem Ergänzen durch heißes Wasser, jedesmal bis etwa zur Hälfte, zum Schlusse jedoch ganz. Die Anode wurde nun nach Abspülen mit destilliertem Wasser in Alkohol, dann in Äther getaucht, über der Flamme des Bunsenbrenners getrocknet und gewogen. Unter Berücksichtigung des von O. HÖNIGSCHMID und ST. HOROVITZ[6]) gefundenen Atomgewichtes des Morogoroblei von 206,05 ist der theoretische Umrechnungsfaktor auf Pb (RaG) aus dem gewogenen Superoxyd $0{,}865_6$. Nimmt man den von manchen Autoren verwendeten praktischen Umrechnungsfaktor[7]) von 0,853 als richtig an, so beträgt dieser für das Morogoroblei $0{,}852_4$. Er wurde allen Analysen zugrunde gelegt. Die in den Platintiegel abgeheberte Flüssigkeit wurde auf dem schon erwähnten Wasserbadaufsatz zur Trockene verdampft, mit 2 Tropfen Salpetersäure und etwa 4 ccm Wasser aufgenommen und sodann mit etwa 15 Tropfen kaltgesättigter Oxalsäurelösung versetzt, hierauf tropfenweise verdünnter Ammoniak bis eben zum deutlichen Ausfallen eines körnigen Niederschlages zugefügt. Die Flüssigkeit reagiert noch deutlich sauer. Nach kurzem Erwärmen auf dem Wasserbade wurde der gebildete Niederschlag von Oxalaten der seltenen Erden eine halbe Stunde

[5]) Siehe H. BILTZ, B. **58**, 1, 913.
[6]) Monatsh. Chem., **36**, 355 (1915).
[7]) Siehe RÜDISÜLE, **3**, 486 ff. (1914).

absitzen gelassen und sodann die Flüssigkeit durch das Platinfilter in einen Berliner Porzellantiegel (hohe Form) abgesaugt, wonach mehrmals mit einer warmen Mischung von 1 Teil kaltgesättigter Oxalsäurelösung mit 3 Teilen Wasser gewaschen wurde. Die Oxalate wurden im elektrischen Ofen mehrere Minuten lang bei etwa 1000° zu Oxyden geglüht, gewogen und hierauf mit möglichst wenig Kaliumpyrosulfat aufgeschlossen, wobei das Platinfilter im Platintiegel belassen wurde. Nach einigen Minuten war der Aufschluß beendet. Die erkaltete Masse wurde mit etwa 2 ccm Salzsäure (1 : 4) übergossen und auf dem Wasserbade bis zur völligen Lösung erwärmt, hierauf die Flüssigkeit in einen (samt Filter) gewogenen Platintiegel übergesaugt, mehrmals mit heißem Wasser nachgespült, auf dem Wasserbade wieder etwas eingeengt und sodann mit etwa 10 Tropfen einer kaltgesättigten Lösung von Natriumsubphosphat ($Na_2H_2P_2O_6$)[8]) versetzt und der bedeckte Tiegel einige Stunden auf dem Wasserbade stehengelassen. Der entstandene Niederschlag von Thoriumsubphosphat wurde durch das Platinfilter filtriert und mehrmals mit wenig heißem Wasser gewaschen, geglüht und als ThP_2O_7 gewogen. Die Differenz aus dem zuerst erhaltenen Oxydgewicht und dem aus dem ThP_2O_7 errechneten ThO_2 ergibt die Menge der seltenen Erdoxyde.

Das Filtrat von den Erdoxalaten im Porzellantiegel wurde zur Trockene verdampft, der Rückstand im bedeckten Tiegel verglüht, in etwa 6 Tropfen konz. Salpetersäure und einigen Tropfen Wasser gelöst, zur Trockene verdampft, mit 2 Tropfen Salzsäure und 2 ccm Wasser aufgenommen, etwa 30 bis 40 mg Hydroxylaminchlorhydrat zugefügt, beinahe zum Sieden erhitzt, kohlensäurefreier Ammoniak in starkem Überschuß hinzugefügt und einige Minuten auf dem Wasserbade absitzen gelassen. Uran bleibt in Lösung, während Eisen und Aluminium einen Niederschlag geben. Der Niederschlag wurde durch ein (zusammen mit einem Platintiegel) gewogenes Platin- oder Porzellanfilter in einen Porzellantiegel (hohe Form) filtriert, hierauf in dem ersten Porzellantiegel, in dem die Fällung erfolgt war, mit wenig verdünnter Salzsäure gelöst, die Lösung durch das Filter in den vorher mit diesem Filter zusammen gewogenen Platintiegel übergesaugt (mehrmaliges

[8]) F. Hecht, Ztschr. analyt. Chem., **75**, 29 (1928).

Nachspülen mit heißem Wasser), etwas eingeengt und mit etwa 10 mg Hydroxylaminchlorhydrat und kohlensäurefreiem Ammoniak die Fällung wiederholt. Das Filtrat wurde in den Porzellantiegel gesaugt, in welchem sich bereits das inzwischen eingeengte erste Filtrat befand. Der Niederschlag wurde in dem Platintiegel, in dem die zweite Fällung erfolgte, samt dem zugehörigen Filter im elektrischen Ofen einige Minuten bei voller Glut geglüht und als $Fe_2O_3 - Al_2O_3$ gewogen. Die zweite Fällung wurde deshalb in einem eigenen Tiegel vorgenommen, um nicht möglicherweise den Bruchteil der Eisen- und Aluminiumlösung, der sich in den Filterporen befunden hätte, der Fällung zu entziehen. Dies wurde bei einer Durchspülung des Filters durch Übersaugen der Lösung in einen anderen Tiegel und Nachwaschen jedenfalls vermieden.

Die im Porzellantiegel befindlichen Filtrate wurden zur Trockene verdampft, hierauf zur Zerstörung des Hydroxylamins dreimal mit einigen Tropfen konz. Salpetersäure + einigen Tropfen Wasser abgeraucht, abermals zur Trockene verdampft, mit Wasser aufgenommen, durch ein Porzellantauchfilter mittels eines Kapillarrohres aus Jenaer Geräteglas, das durch einen Korkstopfen in die Öffnung eines bei 105° getrockneten und gewogenen Jenaer Mikrofilterbechers[9]) eingeführt wurde, vorsichtig in diesen übergesaugt (Nachspülen mit heißem Wasser), mit 2 bis 3 Tropfen gesättigter Ammonazetatlösung versetzt, nach dem Erwärmen auf etwa 80° tropfenweise, unter Umschwenken, mit einem größeren Überschuß von 8-Oxychinolinazetatlösung[10]) versetzt, der entstandene Uranoxinniederschlag bis zum Erkalten absitzen gelassen und hierauf die Flüssigkeit unter zweimaligem Waschen mit heißem und einmaligem mit kaltem Wasser in einen Porzellantiegel (hohe Form) gesaugt. Der Uranoxinniederschlag wurde bei 105° unter Durchsaugen von staubfreier Luft bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, was nach einer halben Stunde mit Sicherheit erreicht war. Das Filtrat wurde eingedampft, der Rückstand geglüht, in 2 Tropfen Salpetersäure gelöst und eingedampft, hierauf mit 0,5 ccm Wasser aufgenommen und in einen Jenaer Mikrofilterbecher übergesaugt,

[9]) Siehe E. Schwarz-Bergkampf, Ztschr. analyt. Chem., **69**, 336 (1926).

[10]) Nach W. Reich-Rohrwig; vgl. F. Hecht und W. Reich-Rohrwig, Monatsh. Chem., **53** u. **54**, 596 (1929).

der vorher durch bloßes Durchsaugen staubfreier Luft getrocknet und dann gewogen worden war, worauf nach R. Dworzak und W. Reich-Rohrwig[11]) mit dem 1½- bis 2fachen Überschuß n/100 Picrolonsäurelösung das Ca unter schwachem Erwärmen als Picrolat gefällt, im Eiskasten erkalten gelassen und dann filtriert, mit ganz wenig eiskaltem Wasser gewaschen und durch Durchsaugen staubfreier Luft getrocknet wurde. Das Filtrat wurde fortgegossen. In einigen Fällen wurde jedoch das Ca auch in einem (samt Filter) gewogenen Platintiegel als Oxalat gefällt und als Oxyd gewogen.

Die Bestimmung der Feuchtigkeit erfolgte derart, daß in einem sehr kleinen Berliner Porzellantiegel eine Einwaage von 5 bis 15 mg (je nach der zur Verfügung stehenden Substanzmenge) etwa 2 Stunden bei 110° im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde; hierauf wurde der Tiegel samt Inhalt im elektrischen Ofen bei etwa 300° bis zur Gewichtskonstanz erhitzt, welche meist nach etwa 1½ bis 2 Stunden erreicht war. Die Bestimmung der Alkalien wurde vorläufig noch nicht durchgeführt, für sie dürfte jedenfalls eine eigene Einwaage empfehlenswert sein, in welcher die Schwermetalle mit $Ba(OH)_2$ ausgefällt werden. Näheres darüber wird noch berichtet werden. Für die Feuchtigkeitsbestimmungen ist eine spezielle Einwaage deshalb nötig, weil durch das Erhitzen bei 300° ein größerer Teil der Kieselsäure in Salpetersäure unlöslich wird, wie sich bei Makroanalysen gezeigt hat.

Zur Analyse wurden durchweg „pro analysi"-Präparate (Merck) verwendet. Eine neuerliche Destillation der Säuren erwies sich nicht als erforderlich, solange in der geschilderten Weise gearbeitet und kein unnötiger Überschuß verwendet wird. Die Reinigung des Platintiegels und des Platinfilters, in welchem der säureunlösliche Rückstand geglüht worden war, erfolgte durch Erwärmen zunächst mit Flußsäure, hierauf mit Wasserstoffsuperoxyd und Schwefelsäure zwecks Lösung der Erdsäuren und gründliches Waschen mit heißem Wasser. Das Platinfilter, welches die Kieselsäure enthielt, wurde im Platintiegel mit Flußsäure erwärmt und mit heißem Wasser gewaschen, dasjenige, auf welchem das Tho-

[11]) Ztschr. analyt. Chem. (1931).

riumsubphosphat geglüht worden war, wurde durch einen Kaliumpyrosulfat-Aufschluß gereinigt, die Schmelze in verdünnter Salzsäure gelöst und darauf heißes Wasser durchgesaugt.

Die beschriebene Methode führte zu durchaus befriedigenden Ergebnissen und zeichnet sich neben ausreichender Genauigkeit vor allem durch die Schnelligkeit ihrer Durchführung aus. Während die Makroanalyse infolge des öfteren, langwierigen Eindampfens und Abrauchens 9 bis 10 Tage erfordert, ist die Mikroanalyse in 1½ bis 2 Tagen ohne weiteres zu vollenden. Es können auch gleichzeitig zwei Mikroanalysen durchgeführt werden. In diesem Zusammenhange möge darauf hingewiesen sein, daß, soweit mir bekannt ist, im vorliegenden Falle zum ersten Male eine Mikromethode für den Analysengang eines Minerals praktisch durchgearbeitet und zahlenmäßig belegt wurde. Zur Festigung der diesbezüglichen Angaben sind weitere Arbeiten im Gange. Die Ausdehnung und Anwendung ähnlicher Methoden auf andere radioaktive Uran-, Thorium- und Erdsäureminerale ist in Vorbereitung.

Beleganalysen:

	1.[12]) %	*2.*[12]) %
Unlöslicher Rückstand	0,66	1,06
SiO_2	0,33	0,31
PbO	7,91	6,59
$Fe_2O_3 + Al_2O_3$	0,90[13])	1,31
CaO	1,55[13])	2,57[14])
Seltene Erden	0,33	0,65
ThO_2	—	—
U_3O_8	86,77	82,98
H_2O (— 110°)	0,76	1,40
Gewichtsverlust zwischen 110° u. 300°	1,11	2,31
	100,32	99,18

[12]) Vgl. Fußnote 2.

[13]) Werte durch Makroanalyse ergänzt.

[14]) Wert vermutlich etwas zu hoch.

	3.	*3a.*	*4.*	*4a.*[12])
	%	%	%	%
Unlöslicher Rückstand	0,03	0,05	0,09	0,11
SiO_2	0,67	0,54	0,08	0,07
PbO	7,34	7,10	7,40	7,15
$Fe_2O_3+Al_2O_3$	0,26	0,22	0,55	0,20
CaO	2,24	1,32	0,76	0,24
Seltene Erden	2,52	2,76	2,67	2,65
ThO_2	0,10	0,24	0,16	0,23
U_3O_8	83,86	84,15	86,01[14])	86,24
$H_2O(-110^0)$	0,56	0,63	0,79	0,83
Gewichtsverlust zw. 110° u. 300°	1,13	1,08	1,13	1,16
	98,71	98,09	99,64	98,88

3a und 4a sind die entsprechenden Makroanalysen vom gleichen, homogenisierten Material wie 3, bezw. 4. Die Analysen 1 und 2 stammen von verschiedenen Schichten desselben Kristalls, 3 und 4 von verschiedenen Kristallen. Alkalibestimmungen wurden bei den vorliegenden Analysen nicht durchgeführt, doch sind Alkalien vorhanden.

Über zwei neue mikrochemische Methoden zum Nachweis des Nikotins neben Pyridin und seinen Derivaten.

Von **Rudolf Hofmann.**

Aus dem Laboratorium für analytische Chemie der pharmazeutischen Fakultät der Universität Bukarest.

(Eingelangt am 25. April 1931.)

Da sich im Laufe einer größeren Arbeit die Notwendigkeit ergab, kleine Mengen von Nikotin neben anderen flüchtigen Basen nachzuweisen, stellten wir mehrere Versuche an, um eine geeignete Nachweisform dafür ausfindig zu machen.

Die zu Gebote stehende Literatur wies in der Mehrzahl der Fälle Farbenreaktionen auf, die wir nicht verwenden konnten, da der Nachweis unsicher ist, wenn fremde Begleitstoffe vorliegen. Die Fällungsreaktionen kamen nur dann in Betracht, wenn die Kristallform sich scharf von den Verunreinigungen unterschied. Es waren daher nur die Fällungen als Brom und Jodaurat zu verwenden. Dabei stellte sich jedoch heraus, daß bei großer Verdünnung auch diese Reaktionen versagen.

Es gelang uns, zwei neue qualitative Reaktionen ausfindig zu machen, von denen die erste mittels Hydroxo-Trirhodanato-Diamino-Chromi-Säure eine große Empfindlichkeit besitzt, was die Erfassungsgrenze anlangt, während die zweite — mittels Silikowolframsäure — sich dadurch auszeichnet, daß sie es ermöglicht, das Nikotin auch in extremster Verdünnung als kristallinisches Salz abzuscheiden.

Nachweis mit Hydroxo-Trirhodanato-Diamino-Chromi-Säure.

Da, wie eingangs erwähnt, in der Literatur keine Reaktion gefunden wurde, die vollständig befriedigt hätte, versuchten wir zunächst mittels REINECKE-Salz den Nachweis zu führen. Dieses

Salz wurde von L. Rosenthaler[1]) zur Kristallfällung zahlreicher Alkaloide verwendet. Nikotin gibt ebenfalls wohlausgebildete Kristalle, jedoch ist eine verhältnismäßig hohe Konzentration notwendig, ein Übelstand, der uns veranlaßte, die von A. Werner[2]) beschriebene Hydro-Trirhodanato-Diamino-Säure zu verwenden.

Das Reagens wird wie folgt bereitet: Man geht vom Reinecke-Salz aus, das nach Nordenskjöld[3]) dargestellt wird. Es wird dreimal aus schwach essigsaurer Lösung umkristallisiert. Die Lösung des so gereinigten Salzes zeigt beim Verdunsten, unter dem Mikroskop betrachtet, lange nadelförmige Kristalle (Fig. I). Das als Verunreinigung auftretende Morland-Salz, die Guanidinverbindung, zeigt beim Verdunsten der Lösung Kristalle, wie aus Fig. II ersichtlich ist.

Wenn man 1 g des so gereinigten Salzes in 5 ccm 8%igem Wasserstoffsuperoxyd löst, bildet sich Werner's komplexe Chromi-Säure, indem aus dem Reinecke-Salz eine Rhodangruppe des Anions und das Ammonium des Kations durch je ein Wassermolekül ersetzt werden:

$$\left[\begin{matrix}\mathrm{Cr}\ (\mathrm{NH_3})_2\\ (\mathrm{CNS})_4\end{matrix}\right]\mathrm{NH_4} \qquad \left[\begin{matrix}(\mathrm{NH_3})_2\\ \mathrm{Cr}\ (\mathrm{CNS})_3\\ \mathrm{OH}\end{matrix}\right]\mathrm{H}\ .\ .\ .\ .\mathrm{H_2O}$$

Reinecke-Salz Werner's Säure

Die gesättigte Lösung dieser Säure diente uns als Reagens auf Nikotin. Zur Kristallisation gebracht, erhalten wir Kristalle nach Fig. III.

Durchführung des Nachweises: Es wurde ein Tropfen der Lösung (neutral oder schwach sauer) auf einen Objektträger gebracht und mittels der Platinöse mit Reagens versetzt. Je nach der Konzentration der Lösung tritt früher oder später Kristallbildung auf.

Mit Nikotin erhalten wir aus konzentrierter Lösung Kristalle nach Fig. IV, die eine Größe bis 100 μ erreichen können. Im polarisierten Licht betrachtet, beobachtet man gerade Auslöschung, bezogen auf die Längsachse.

[1]) Amer. Journ. Pharm., **10**, 101 (1929); Pharmaz. Zentralhalle, **71**, 215, 1930; Arch. f. Pharm. u. Ber. d. pharm. Ges., **265**, 322, 1927.

[2]) B., **49**, 1539, 1916.

[3]) Ztschr. anorgan. Chem., **1**, 130, 1890.

Erfassungsgrenze: 0,157 γ.

Grenzkonzentration: 1 : 3800.

Pyridin. Pyridinlösungen kristallisieren, wie aus Fig. V ersichtlich ist. Wenn man Nikotinlösungen mit steigender Konzentration an Pyridin untersucht, findet man, daß die Kristallform des Nikotins allmählich in die des Pyridinsalzes übergeht. Spezifität des Nachweises 75% Pyridin neben 25% Nikotin.

Kollidin (Fig. VI). Wenn wir steigende Mengen von Kollidin in Nikotinlösung untersuchen, so finden wir eine Spezifität des Nachweises bei 90%.

Lutidin (Fig. VII). Für Lutidin wurden bei 75% Spezifität gefunden.

Pikolin (Fig. VIII) 75%.

Nachweis mit Silikowolframsäure.

Diese erstmalig von GODDEFROY[4]) als Alkaloidreagens verwendete Säure erwies sich als besonders empfindlich gegen Nikotin, wie aus den Arbeiten von BERTRAND[5]), JAVILLIER[6]), CHAPIN[7]), RASMUSSEN[8]) und anderen hervorgeht. Für mikrochemische Zwecke wurde sie bisher nicht angewendet, da die Niederschläge amorph ausfallen. Nach unseren Versuchen kann man diesen Übelstand beseitigen, wenn man die im folgenden beschriebene Arbeitsweise einhält.

Reagenzien: Silikowolframsaures Natrium 10- bis 12%iger Lösung.

Chlornatrium krist.

Die zu untersuchende Lösung wird mit Salzsäure (0,1 bis 1%) schwach angesäuert. Dann fügt man mit der Platinöse silikowolframsaures Natrium hinzu. Man bemerkt, je nach Konzentration der Lösung, das Auftreten einer Trübung oder das Ausfallen eines weißen Niederschlages. In letzterem Falle ist der Nachweis mit einer verdünnteren Lösung zu führen. Bei passender

[4]) Ber. d. 49. Naturforsch.-Vers., 1876, durch C., III., 7. 809 (1876).

[5]) Bull. soc. chim., III., **21**, 434 (1899); Compt. rend., **128**, 742 (1899).

[6]) Bull. soc. pharmacol., **17**, 315, 629 (1910).

[7]) U. S. Bureau of Animal Ind. Bull., 133 (1911).

[8]) Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **27**, 193, 1917.

Verdünnung, das heißt bei Auftreten der oben erwähnten Trübung, versetzt man den Tropfen auf dem Objektträger mit einigen Körnchen Kochsalz. In ungefähr 5 bis 10 Minuten kristallisiert das Nikotin in Form von rechteckigen Plättchen aus, die an der Schmalseite unregelmäßig gezackt sind (Fig. IX). Diese Kristalle sind bei gekreuztem Nikol vollständig ausgelöscht, gehören daher dem tesseralen System an (Fig. X).

Erfassungsgrenze: 0,4 γ.

Grenzkonzentration: 1 : 1,250.000.

Pyridin. Hat man eine Lösung auf Pyridin zu untersuchen, so ist die Säurekonzentration möglichst niedrig zu halten. In Anwesenheit von Pyridin scheidet sich außer den oben beschriebenen Nikotinkristallen auch die Pyridinverbindung aus. Diese Kristalle sind bedeutend größer, stärker lichtbrechend, besitzen gerade Kanten und spitz zulaufende Schmalseiten. Bei gekreuzten Nikols betrachtet, zeigen sie gerade Auslöschung, wie aus Fig. IX und X ersichtlich ist.

Lutidin, Pikolin und Kollidin geben keine charakteristischen Kristalle.

Die vorliegenden Aufnahmen wurden mit einer Cerny-Kamera gemacht.

Zusammenfassung.

1. Es wurde die Anwendung der Hydroxo-Trirhodanato-Diamino-Chromi-Säure als mikrochemisches Reagens für Nikotin beschrieben.

2. Es wurden die Erfassungsgrenze, Grenzkonzentration und die Grenzverhältnisse des Nachweises bei Anwesenheit von Pyridin, Lutidin, Kollidin und Pikolin bestimmt.

3. Es wurde gezeigt, daß durch Kochsalzzusatz der amorphe Nikotin-Silikowolfram-Niederschlag zur Kristallisation gebracht werden kann und charakteristische Kristalle liefert.

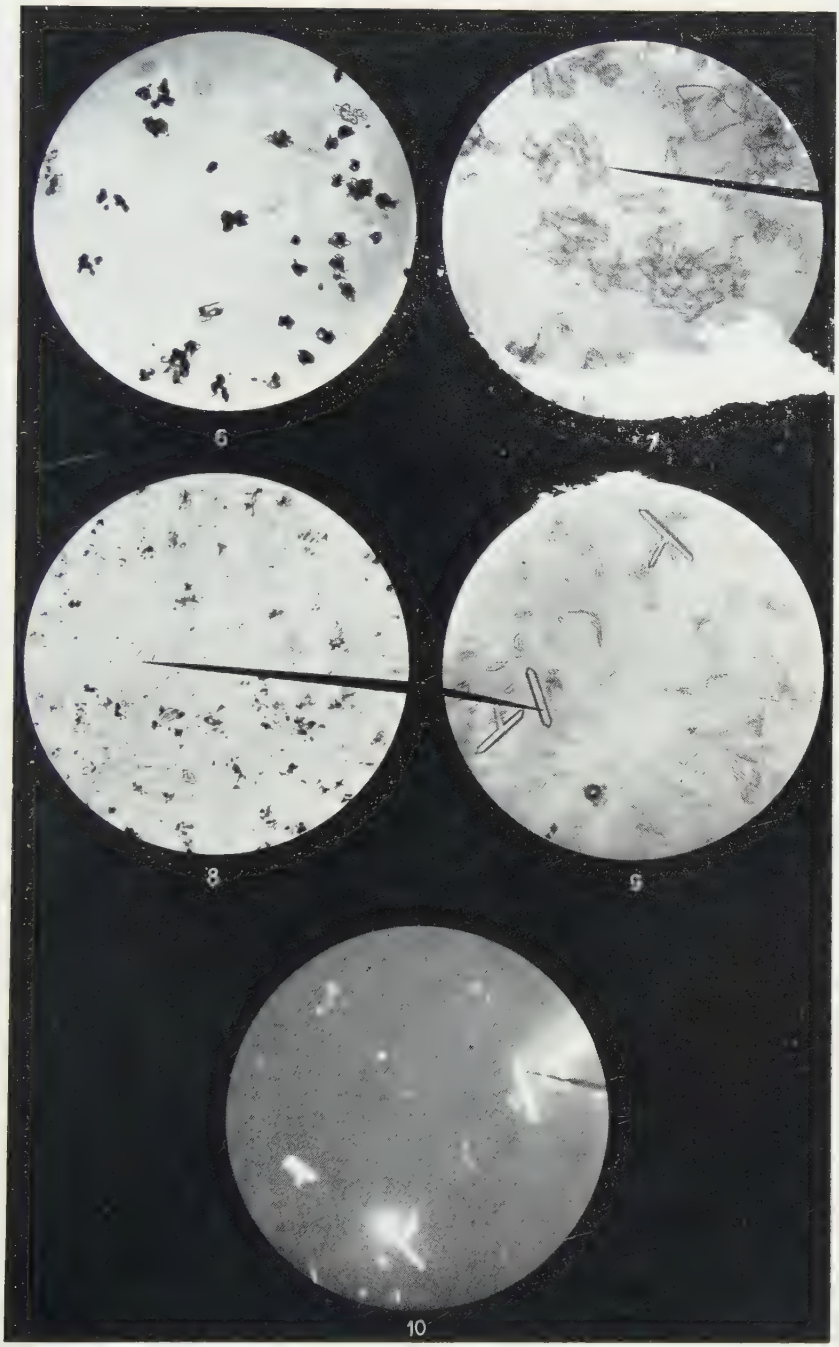
4. Es wurde die Erfassungsgrenze und Grenzkonzentration dieser Reaktion festgestellt.

Es ist uns eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. N. T. Deleanu, dem Leiter des Instituts, unseren Dank dafür auszusprechen, daß er diese Arbeit durch werktätige Anteilnahme gefördert hat.

Rudolf Hofmann. Über zwei neue mikrochemische Methoden zum Nachweis des Nikotins neben Pyridin und seinen Derivaten.

Verlag von **Emil Haim & Co., Wien und Leipzig.**

Rudolf Hofmann, Über zwei neue mikrochemische Methoden zum Nachweis des Nikotins neben Pyridin und seinen Derivaten.



Verlag von **Emil Haim & Co., Wien und Leipzig.**

Einsatznutschen zur Filtration kleiner Substanzmengen.

Von **Ernst Eigenberger.**

Aus dem organischen Institut der Deutschen Technischen Hochschule Prag.

(Eingelangt am 20. Mai 1931.)

Mit dem fortschreitenden Ausbau der organischen mikroanalytischen Arbeitsmethoden gewinnt die präparative Verarbeitung und Reinigung geringer Substanzmengen an Bedeutung. Für die Filtration von Kristallisaten in Mengen von nur wenigen Milligrammen wird meist die Mikronutsche nach E. SCHWINGER[1]) verwendet. Für die rasche präparative Filtration von Substanzmengen mit einem Gewicht von mehreren Milligrammen bis zu Zentigrammen eignen sich vom Verfasser konstruierte Einsatznutschen in Form von Filterröhrchen (Fig. 1), deren zur Auflage des Papierfilters bestimmte Einsätze sich aus ineinandergeschobenen Glasrohrsegmenten leicht herstellen lassen. Solche Nutschen zeichnen sich durch gute Unterstützung des Filters, hohe Filtrationsgeschwindigkeit und durch bequeme Handhabung aus. Die Entleerung und Reinigung, die bei Filterröhrchen mit Glasfritte häufig umständlich ist, ist hier dadurch erleichtert, daß sich Einsatz samt Filter und Substanz von unten nach oben aus dem Filterröhrchen herausschieben lassen. Hierdurch können Substanzverluste leicht völlig vermieden werden, und durch die vollkommene Zerlegbarkeit des Filterröhrchens samt Einsatzes wird die Möglichkeit einer leichten und vollständigen Reinigung gewährleistet.

Für die Filtration von Kristallisaten aus leicht flüchtigen Lösungsmitteln eignet sich bekanntlich die Druckfiltration, da Vakuumfiltration ein Verstopfen des Filters durch

[1]) Vergl. F. PREGL, Die quantitative organ. Mikroanalyse, 3. Aufl., S. 244.

Kristallisation im Filtrat veranlassen würde. Für Druckfiltration sind Mikronutschen nach Art der SCHWINGER'schen Mikronutsche nicht ohne Nachteil verwendbar, da der angewandte Druck den verbindenden Gummischlauch oberhalb des Filters abheben würde. Es ist ohne weiteres ersichtlich, daß die beschriebenen Einsatznutschen für Druckfiltration ebenso wie für Vakuumfiltration geeignet sind. Eine Vorrichtung, wie sie für Umkristallisation geringer Substanzmengen aus ätherischer Lösung bei —70° mit

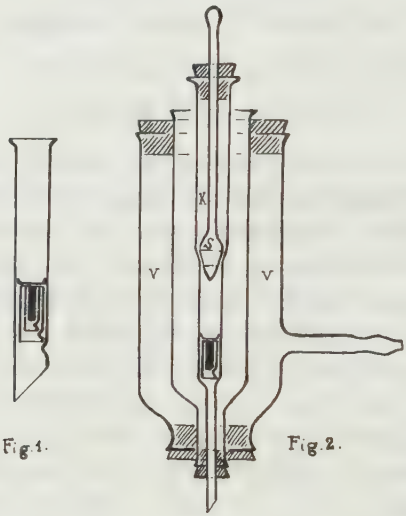


Fig. 1. Fig. 2.

Vorteil verwendet wurde, ist aus Fig. 2 ersichtlich. Der evakuierte Schutzmantel (V) schließt das Kühlgefäß ein, worin sich eine Lösung von CO_2-Schnee in Äther befindet. Der obere Teil des in der Kühllösung befindlichen Einsatzfilterröhrchens dient als Kristallisationskammer (K) und kann durch Entfernung des eingeschliffenen Verschlußstöpsels (S) mit dem unteren Teil für die Druckfiltration verbunden werden.

Für die Herstellung der Einsatznutschen wird so verfahren, daß in dem Außenmantel des Filterröhrchens eine kleine Einbuchtung angebracht wird, auf welcher das einzuschiebende Rohrsegment aufsitzen kann. Als letzteres wird ein nicht zu locker sitzendes Rohrstückchen von 10 bis 20 mm Länge gewählt, dessen untere Kante nach Anbringen einer Einbuchtung rundgeschmolzen wird.

In dieses Rohrsegment wird ein zweites, in ebensolcher Weise vorbereitet, eingeschoben, die Länge vermerkt und abgeschnitten. Je nach der Breite des Filterröhrchens werden so zwei bis drei Segmente ineinandergesteckt; den Kern bildet ein dünnes Glasstäbchen. Die den Einsatz bildenden, ineinandergeschobenen Segmente werden auf der Stirnfläche gemeinsam ebengeschliffen.

Die Filterchen werden mittels eines Korkbohrers mit einem um etwa 2 mm größeren Durchmesser ausgeschnitten, als die lichte Weite des Filterröhrchens beträgt. Zur Beschickung legt man auf die Mündung der Nutsche ein Filterscheibchen, setzt einen ebengeschnittenen Glasstab (von der Breite des Einsatzes) zentral auf das Filterchen und schiebt dieses nach unten auf den Einsatz. Nach Ansaugen, Befeuchten und Andrücken sitzt das Filter vollkommen dicht.

Zur Anwendung des p-Dimethylaminobenzylidenrhodanins in der Tüpfelanalyse.

Von **Hans Holzer.**

Aus dem Punzierungsamt Wien.

(Eingelangt am 24. März 1931.)

Vor einigen Monaten ist in dieser Zeitschrift von mir eine Abhandlung „Über Tüpfelmethoden zum Nachweis von Edelmetallen“[1]) erschienen, die sich unter anderem mit der Reaktionsfähigkeit des p-Dimethylaminobenzylidenrhodanins mit Gold, Platin und Palladium beschäftigt und auf Grund der Versuchsergebnisse dessen praktische Verwendung zum Silbernachweis in Edelmetalllegierungen bezweifelt.

An dieser Stelle wurde nun kürzlich von F. Feigl, P. Krumholz und E. Rajmann[2]) eine Arbeit veröffentlicht, die im wesentlichen meine Versuchsergebnisse bestätigt, jedoch den Begriff der Spezifität des obgenannten Reagens für Silber unbedingt aufrechterhalten will.

Ich möchte gleich eingangs erwähnen, daß es mir in meiner damaligen Arbeit vollkommen fernlag, die Zahl der mit dem Rhodanin reagierenden Metalle zu vergrößern. Der eigentliche Zweck war, dem praktisch arbeitenden Chemiker, bei Verwendung dieses Reagens zum Nachweis von Silber in Edelmetallegierungen, unliebsame Überraschungen zu ersparen, die nach den ersten Ausführungen Feigl's über sein Reagens[3]) im Bereich der Möglichkeit lagen. Denn Feigl berichtet über das Rhodanin, daß es bei Abwesenheit von Quecksilber nur mit Silber zu Reaktionen befähigt ist. Im praktischen Teil der Veröffentlichung erwähnt er unter an-

[1]) H. Holzer, Mikrochemie, **VIII**, 271, 1930.

[2]) F. Feigl, P. Krumholz und E. Rajmann, Mikrochemie, **IX**, 165, 1931.

[3]) F. Feigl, Ztschr. analyt. Chem., **74**, 380, 1928.

derem den Silbernachweis in Schmuckplatinen, den er durch Lösen eines Strichs des Materials auf der Strichtafel, Abdampfen des Lösungsmittels und Behandeln des Rückstandes mit dem Reagens durchzuführen glaubte. Im Kongreßbericht der Tagung des Deutschen und Österreichischen Verbandes für Materialprüfung der Technik[4]) kommt FEIGL auf das Rhodanin als Reagens zurück und schreibt wörtlich: „. . . . So sind wir zum Beispiel in der Lage, Spuren von Silber . . . neben allen anderen Metallen nachzuweisen." Zu diesem Zeitpunkt war außer der Reaktionsfähigkeit des Rhodanins mit Silber auch jene des Quecksilbers bekannt. Besagtes dürfte wohl Beweis genug für die von mir vorstehend ausgeführte Meinung sein.

Wenn Herr FEIGL in seiner jetzigen Abhandlung[5]) in einer Fußnote mitteilt, daß er zur Zeit der Veröffentlichung seines Silbernachweises nicht im Besitz von Edelmetallsalzen war, sondern sie erst im Februar 1930, also fast zwei Jahre später, erhalten konnte, ist diese Tatsache an sich recht bedauerlich, hätte aber, meiner Meinung nach, nur in Verbindung mit der ersten Veröffentlichung Interesse gehabt. Das heißt, es hätte die Silberreaktion nur mit der Einschränkung als spezifisch bezeichnet werden können, unter besonderer Erwähnung der Tatsache, daß die anderen Edelmetalle, ihrem Verhalten dem Reagens gegenüber, nicht geprüft wurden. Nur so ist es erklärlich, daß Herr FEIGL einen direkten Silbernachweis in Schmuckplatinen empfiehlt, den er durch Auflösen eines Strichs des Materials, Eindampfen des Lösungsmittels und Behandeln des Rückstandes mit dem Reagens durchführt.

Zum Inhalt der Arbeit selbst seien nur einige Bemerkungen gestattet. Herr FEIGL setzt bei mir Unkenntnis seiner Bezeichnung „spezifisches Reagens" voraus, eine Annahme, die nicht zutreffend ist. Meiner Meinung nach habe ich mich vollkommen an die von ihm veröffentlichte Auffassung[6]) gehalten. FEIGL schreibt wörtlich: „. . . außerdem ist eine besondere Spezifität der Reaktion erwünscht, das heißt die Umsetzung soll auf ein bestimmtes Element oder auf eine möglichst geringe Zahl von Elementen be-

[4]) Kongreßbericht, Mikrochemie, **VII**, 411, 1929.
[5]) F. FEIGL, P. KRUMHOLZ und E. RAJMANN, Mikrochemie, **IX**, 166, 1931
[6]) F. FEIGL, Chem.-Ztg., **47**, 322, 1923.

schränkt bleiben." Dies wiederholt er sinngemäß in seinem Buche[7]), schließlich finden wir dieselbe Definition in seiner jetzigen Abhandlung wieder, wobei FEIGL allerdings in Erwägung zieht, ob es nicht besser wäre, lediglich von spezifischen Nachweisen und nicht von spezifischen Reagenzien zu sprechen.

Bekannt war ja die Reaktionsfähigkeit des Rhodanins mit Quecksilber, die ja FEIGL selbst angibt, weiters die Niederschlagsbildung mit Cuprosalzen[8]), welche in neuerer Zeit von KOLTHOFF[9]) bestätigt wurde, und die von mir festgestellten Reaktionen mit Gold, Platin und Palladium[10]). Nun fasse ich den Begriff der Spezifität nach der Sinnerklärung FEIGL's so, daß ich zur spezifischen Reaktion eine möglichst g e r i n g e Anzahl von Elementen voraussetzte, zwei, höchstens drei an der Zahl, und nicht, wie FEIGL augenscheinlich meint, auch sechs bis sieben. Außerdem setzte ich eine gewisse Verwandtschaft der reagierenden Elemente hinsichtlich ihrer Stellung im periodischen System oder in ihrem analytischen Verhalten voraus. Der einzige Vorwurf, der mich treffen könnte, wäre meiner Meinung nach nur der, daß ich den Begriff zu streng gefaßt hätte. Ich mußte dies tun, da man ja sonst ein Gruppenreagens, z. B. S c h w e f e l w a s s e r s t o f f, unter Einhaltung bestimmter Bedingungen, für irgendein Element, oder eine Elementengruppe, s p e z i f i s c h im Sinne FEIGL's bezeichnen könnte, eine Auslegung des Begriffes, die an sich nach seiner jetzigen Arbeit möglich, kaum aber den Beifall der Fachwelt finden dürfte. Durch diese Tatsache wäre dann eigentlich der Begriff „spezifisch" überflüssig geworden. Weiters erscheint es mir unerklärlich, warum das Rhodanin gerade silberspezifisch benannt werden soll, da ja das Palladium, nach FEIGL's und meinen Feststellungen, wesentlich empfindlicher reagiert. Auch hier wäre eine Klärung des Begriffes „spezifisch" nötig, vielleicht in dem Sinn, daß das Reagens nach dem mit ihm am empfindlichsten reagierenden Element zu bezeichnen wäre. Es müßte also, wenn man den Ausdruck beibehalten will, das Rhodanin nunmehr palladiumspezifisch bezeichnet werden.

---

[7]) F. FEIGL, Qual. Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen. Akad. Verlagsges. m. b. H., Leipzig 1931.

[8]) E. FUNAKOSCHI, Chem. Zentralblatt, **1929**, II, 1330.

[9]) J. M. KOLTHOFF, Journ. Amer. chem. Soc., **52** 2222 1930.

[10]) H. HOLZER, Mikrochemie, **VIII**, 271, 1930

Daß ich mich in meiner ersten Arbeit mit dem Begriff „spezifische Reaktionen", bezw. „spezifische Reagens" nicht weiter auseinandergesetzt habe, ist wohl verständlich, wenn ich meinte, es wäre Aufgabe der Fachleute dieses Gebietes der Chemie, sich mit der Abgrenzung und eindeutigen Sinnerklärung von Begriffen zu befassen. Nun bringt die neue Abhandlung FEIGL's und seiner Mitarbeiter wieder nicht die gewünschte Klärung, so daß es kaum wundernimmt, wenn der Praktiker auf eindeutige Beantwortung der Frage drängt. Nach meinen Versuchsergebnissen konnte ich die Bezeichnung „silberspezifisch" nicht aufrechterhalten, anderseits wäre die mögliche Benennung des Rhodanins als edelmetallspezifisch der FEIGL'schen Sinnerklärung derartiger Reaktionen widersprechend, so daß ich in meiner Arbeit zu der von Herrn FEIGL beanständeten Zusammenfassung kommen mußte.

Die weiteren Ergebnisse, zu denen FEIGL und seine Mitarbeiter kamen, bedeuten sicherlich eine wertvolle Bereicherung der Literatur, nur verliert das Reagens trotz alledem seinen praktischen Wert in der qualitativen Edelmetallanalyse zur Gänze. Es ist ja bekanntlich ein Unterschied, ob man sich durch Mischen von Metallsalzlösungen bekannte Untersuchungsverhältnisse herstellt oder ob die Aufgabe vorliegt, eine Legierung ganz unbekannter Zusammensetzung zu untersuchen. Es dürfte kaum möglich sein, trotz Präparation des Probetropfens nach der Vorschrift FEIGL's, im unbekannten Medium (Lösung einer Edelmetallegierung) die Anwesenheit des gesuchten Elements mit unbedingter Sicherheit festzustellen. Um so mehr, als auch die hervorgerufenen Färbungen kaum nennenswert voneinander abweichen und Begriffe, wie „die Farbe erscheint sofort oder erst nach einiger Zeit", in ein Gebiet fallen, in dem Schlüsse von der individuellen Veranlagung des Beobachters wesentlich abhängig sind.

Da in sachlicher Hinsicht eine weitere Klärung kaum möglich sein dürfte, glaube ich, für meine Person die Auseinandersetzung über die Reaktionsfähigkeit des p-Dimethylaminobenzylidenrhodanins abschließen zu können.

Bemerkungen zur Abhandlung von Herrn H. Holzer.

Von **F. Feigl.**

(Eingelangt am 25. Juli 1931.)

Herr H. Holzer, dem es mit Hilfe eines von mir aufgefundenen und aus meinen Beständen stammenden Reagens gelungen ist, zu zeigen, daß es nicht nur mit Silber, sondern auch mit Edelmetallsalzen reagiert, gibt sich einem Irrtum hin, wenn er vermeint, daß es mir um eine Auseinandersetzung mit ihm zu tun gewesen ist. Vielmehr war es Zweck meines von ihm herangezogenen Aufsatzes, an praktischen Beispielen zu zeigen, daß der Begriff der Reaktionsspezifität stets auch die jeweils herrschenden Versuchsbedingungen zu berücksichtigen hat, und daß es deshalb zweckmäßig sei, von spezifischen Nachweisen zu sprechen. Herr Holzer versucht in seinem vorstehenden Aufsatz, mich mit meiner Sinnerklärung über das Wesen der Spezifität zu belehren. Er „faßt den Begriff der Spezifität nach der Sinnerklärung Feigl's so, ... und nicht, wie Feigl augenscheinlich meint ...", auf. Dieser Satz ist mir unverständlich geblieben, und es geht auch aus anderen Stellen seines Aufsatzes, die klarer sind als die eben zitierte, deutlich hervor, daß Herr Holzer meine Begriffserläuterung trotz verschiedentlicher wörtlicher Zitate nicht verstanden hat. Der von Herrn Holzer als Beispiel herangezogene Schwefelwasserstoff ist natürlich kein spezifisches Reagens, könnte aber sehr wohl auch spezifische Nachweise ermöglichen, wenn Versuchsbedingungen bekannt wären, die eine selektive Einwirkung bedingen.

Herr Holzer ist der Meinung, daß das Dimethylaminobenzylidenrhodanin, dessen Brauchbarkeit als Nachweisreagens bei Mischungen von Edelmetallsalzen wir innerhalb weiter Grenzen fest-

gestellt haben, „seinen praktischen Wert in der qualitativen Edelmetallanalyse zur Gänze verliert", weil es einen Unterschied ausmachen soll, ob man zur Analyse eine Auflösung einer Legierung oder eine künstlich hergestellte Lösung der in der Legierung enthaltenen Bestandteile benützt. Mit dieser Ansicht dürfte Herr Holzer wohl allein dastehen. Herr Holzer bringt in seiner Polemik das Zitat, „die Farbe erscheint sofort oder erst nach einiger Zeit", und fügt hinzu, daß ein solcher „Begriff" (es soll wohl heißen Angabe) „in ein Gebiet fallen, in dem Schlüsse von der individuellen Veranlagung des Beobachters wesentlich abhängig sind". Hierzu ist zu sagen: In der von ihm herangezogenen Arbeit kommt obiges Zitat nicht vor, vielmehr ist auf S. 170 deutlich vermerkt, daß die Farbreaktion des Palladiums auf dem Reagenspapier s o f o r t, die des Platins aber erst etwa nach ½ Minute erfolgt. Dies ist eine für jeden Analytiker wohl hinreichende Angabe, soferne man einen Unterschied zwischen der „individuellen Veranlagung" des Sehen-Wollens und des Sehen-Könnens macht. Im übrigen hätte Herr Holzer auch Gelegenheit gehabt, sich von der praktischen Durchführung der von ihm beanständeten Nachweise zu überzeugen, da mein Mitarbeiter Herr P. Krumholz dieselben sowohl in seinem Vortrage bei der Hauptversammlung des V. D. Ch. (Wien, Mai 1931) als auch bei den Vorführungen über Tüpfelanalyse gezeigt hat.

Elektrischer Ofen zur Mikroelementaranalyse ohne Hohlgranate.

Von **W. Füner.**

Aus dem organisch-chemischen Laboratorium d. Technischen Hochschule Karlsruhe.

(Eingelangt am 12. Juni 1931.)

B. FLASCHENTRÄGER[1]) hat neuerdings einen runden elektrischen Ofen für Mikroelementaranalyse beschrieben. Ich benütze seit Februar 1929 ebenfalls einen nach eigenen Angaben gebauten elektrischen Ofen (Fig. 1), welcher sich aber in einigen Teilen von dem oben erwähnten unterscheidet, insbesondere keine Hohlgranate besitzt. Er soll deshalb besprochen werden. Die Beschreibung des Ofens erfolgt in der Richtung des Gasstromes. Die Verdampfung der Verbrennungssubstanz und das Ausglühen des aus dem langen Ofen herausragenden Teiles des Rohres geschieht nach der PREGLschen Methode mit einem Bunsenbrenner. Der ursprünglich dazu benutzte elektrische Ofen wurde später weggelassen, weil der Bunsenbrenner hier verschiedene Vorteile aufweist. Bei seinem Gebrauch wird nämlich die Abkühlung des freiliegenden Rohres in wenigen Minuten erreicht, die Verdampfung der Substanz läßt sich leicht beobachten und regulieren, und schließlich kann, worauf noch später eingegangen wird, beim Ausglühen das Rohr bis dicht an den langen Ofen auf Rotglut erhitzt werden, was beim elektrischen Ofen kaum möglich ist.

Langer Ofen: Er umhüllt die Kupferoxyd-Bleichromat-Füllung und ist als runder Ofen mit Chromnickeldrahtwicklung gebaut. Der Ofen wird mit 2 Amp. in Betrieb gesetzt und mit 1,3 Amp., durch Einschalten eines Widerstandes, auf Rotglut gehalten. Er ist auf Rollen verschiebbar eingerichtet; es hat sich

[1]) Mikrochemie, **III**, 15 (1931).

jedoch später als zweckmäßig erwiesen, nicht den Ofen, sondern das Rohr selbst im Ofen zu verschieben, und zwar um 1 bis 1,5 cm in der dem Gasstrom entgegengesetzten Richtung. Diese Verschiebung genügt vollständig, um die im vorderen kälteren Teil des Verbrennungsofens eventuell verkohlte Substanz zu verbrennen. Um diese Verschiebung zu ermöglichen, wurde der Schnabel des Verbrennungsrohres nicht wie üblich 3, sondern 4 cm lang ausgezogen. Diese kleine Verschiebung des Rohres genügt nur dann zur völligen Verbrennung der Substanzreste, wenn der lange Ofen so gewickelt ist, daß Rotglut in einem Abstand von 1 bis 1.5 cm vom Rand des Ofens erreicht wird, und wenn die Verdamp-

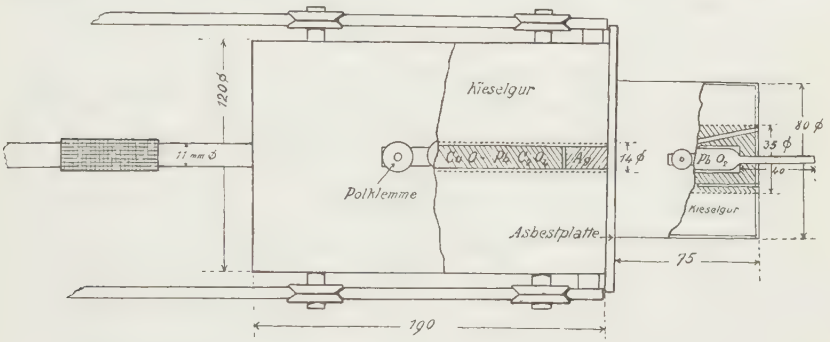


Fig. 1.

Höhe des Gestells 220, Länge des Rohres 500.

fung der Substanz mit dem Gasbrenner geschieht, wodurch es möglich ist, das Rohr bis direkt an den langen Ofen auf Rotglut zu erhitzen.

Hohlgranate: Diese wurde durch einen massiven Eisenblockofen ersetzt. Der Eisenkern, welcher außen mit Chromnickeldraht gewickelt ist, hat eine zentrale Bohrung für das Verbrennungsrohr und zwei seitliche Bohrungen für den Kupferbügel und das Thermometer. Die Thermometerbohrung ist schräg angebracht und endigt in der Mitte des Ofens. Die Wicklung ist so gewählt, daß der Ofen mit 0,5 Amp. angeheizt werden kann und später mit 0,35 Amp. bei 174 bis 176° konstant bleibt. Zur besseren Konstanz bei Stromspannungsschwankungen im Netz ist in den Stromkreis eine Osrameisenwiderstandslampe für 0,35 Amp. eingebaut,

welche durch den Eigenwiderstand die Stromstärke auf 0,35 Amp. reduziert und von den kleinen Schwankungen der Netzspannung unabhängig macht. Die Temperatur bleibt dann auf 2° konstant; diese kleinen Schwankungen sind aber ohne Einfluß auf die Exaktheit der Wasserstoffwerte. Dies zeigt der Betrieb innerhalb von 2½ Jahren, in denen sich keine Schwierigkeiten bei der Wasserstoffbestimmung ergeben haben. Es sind Substanzen bis zu 13% H zur Verbrennung gekommen.

Der Ersatz der PREGL'schen Hohlgranate ist deshalb recht zweckmäßig, weil sie zahlreiche Mängel (Undichtheit, Siedeverzüge usw.) zeigt, auf die schon wiederholt hingewiesen wurde[2]). A. VERDINO[3]) hat deshalb neuerdings eine neue Hohlgranate konstruiert, welche ein leichteres Dichthalten der Siedeflüssigkeit erlaubt. Der Vorteil des neuen konstanten Ofens[4]) ohne Siedeflüssigkeit liegt aber nicht nur in der Unmöglichkeit des Undichtwerdens, sondern vor allem darin, daß keine Cymoldämpfe in die Luft des Verbrennungszimmers gelangen können.

Die Verbrennung geht, kurz beschrieben, so vor sich: Das Rohr ist am Anfang der Verbrennung so verschoben, daß das ausgezogene Ende ganz herausragt. Die eigentliche Verbrennung wird ganz nach der Vorschrift von PREGL durchgeführt. Ist man mit dem Bunsenbrenner bis an den langen Ofen gekommen, so wird das Rohr aus dem Ofen 1 bis 1,5 cm herausgezogen und die eventuell verkohlte Substanz ganz verbrannt. Dann wird das freiliegende Rohrende noch einmal durchgeglüht und insgesamt 100 ccm Luft durchgeleitet. Beim Abnehmen der Absorptionsgefäße wird das Rohr in die Anfangsstellung zurückgebracht. Die Füllung des Rohres ist nur durch die um 1 bis 2 cm längere Silberschicht von der sonst benützten verschieden. Der Ofen kann in jeder Laboratoriumswerkstatt nach den in der Zeichnung angegebenen Maßen gebaut werden[5]).

[2]) MEIXNER-KRÖNER, Mikrochemie, **5**, 120 (1927).

[3]) Mikrochemie, **3**, 125 (1931).

[4]) Die verhältnismäßig lange Anheizdauer (½ Stunde) kann man abkürzen, indem man entweder den kleinen Ofen über Nacht brennen läßt, oder eine zweite Wicklung für 1,5 bis 2 Amp. anbringt, die ausgeschaltet wird, wenn der Ofen auf der gewünschten Temperatur ist.

[5]) Der Ofen kann von der Firma Kirchenbauer, Apparatebau, Singen (Amt Pforzheim), bezogen werden.

Dem Direktor des organisch-chemischen Laboratoriums, Herrn Prof. Dr. St. Goldschmidt, spreche ich für seine Beratungen und seine Unterstützung meinen verbindlichsten Dank aus. Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft bin ich für die teilweise übernommenen Kosten zu ergebenem Dank verpflichtet.

Der mikrochemische Nachweis flüchtiger Fettsäuren in der Pflanze. I.

Von **Gustav Klein** und **Hans Wenzl**
unter experimenteller Mitarbeit von **Norman Kemperling.**

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien.

(Eingelangt am 25. Juli 1931.)

Einleitung.

Trotz der vielen Angaben über das Vorkommen flüchtiger Fettsäuren in Pflanzen in der neueren und älteren Literatur (Zusammenstellung bei C. WEHMER[1]) ist über die Physiologie dieser Säuren in der höheren Pflanze fast nichts Sicheres bekannt. Neuere Arbeiten aus den letzten Jahren lassen es für einige Säuren wahrscheinlich erscheinen, daß sie im abbauenden N-Stoffwechsel eine Rolle spielen. G. KLEIN und M. STEINER[2]) hatten bei einer erstmaligen exakten mikrochemischen Bearbeitung einer Gruppe von Blütenduftstoffen gezeigt, daß bei der Eiweißveratmung in Blüten relativ große Mengen Ammoniak, bezw. Amine gebildet werden, und nehmen an, daß bei bestimmten Pflanzen ein charakteristischer Geruch auch auf Fettsäuren zurückzuführen sei, die durch Desaminierung von Monoaminosäuren entstanden sein können.

Schon A. KERNER[3]) aber unterscheidet mehrere Arten von Düften: Darunter sind die aminoiden Düfte (Amine), die sogenannten paraffinoiden Düfte, zu denen er unter anderen den Holunderduft *(Sambucus nigra, Orchis pallens)*, den Bocksduft (Capronsäure?) *(Himantoglossum hircinum, Orchis fragans)* oder den Duft von Valerianaarten rechnet. Für Valerian- und Capron-

[1]) Die Pflanzenstoffe, Jena 1911.

[2]) N-Basen im Eiweißabbau höherer Pflanzen, Jahrb. f. wiss. Bot., **68**, 602 (1928).

[3]) Pflanzenleben II, Wien 1891.

säure wenigstens ist es wahrscheinlich, daß sie die bei der (reduktiven) Desaminierung von Valin und Leucin entstehenden Säuren darstellen.

Was die mehrbasischen Pflanzensäuren betrifft: Oxalsäure, Apfelsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure und Zitronensäure, so sind sie heute bereits eindeutig nebeneinander mikrochemisch erfaßbar (G. KLEIN und O. WERNER[4]), auch die physiologische Rolle der Mehrzahl von ihnen ist durch die Arbeiten von W. RUHLAND und K. WETZEL[5]) (wenigstens für die eine Gruppe der Säurepflanzen) weitgehend geklärt: ihre Entstehung im abbauenden N-Stoffwechsel aus Aminosäuren und ihre (den Amiden entsprechende) ammoniakentgiftende Funktion. Diese Säuren finden sich in der Pflanze viel häufiger und in viel größerer Menge als die flüchtigen Fettsäuren und bieten auch nicht derartige methodische Schwierigkeiten wie diese, waren daher der physiologischen Erforschung leichter zugänglich.

Die Durchsicht der Literatur zeigt, daß besonders Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, i-Valeriansäure, Capronsäure und Caprylsäure häufig angegeben werden, seltener Propionsäure und Heptylsäure.

Manche Angaben beschränken sich auf eine geruchsmäßige Feststellung einzelner Säuren, in den meisten Fällen gründen sich die Angaben auf die Analyse von Salzen, wobei aus dem Prozentgehalt an Metalloxyd auf die entsprechende Säure geschlossen wird. Es muß aber bemerkt werden, daß Gemische verschiedener Säuren auf diese Weise einzelne, nicht vorhandene Säuren vortäuschen können. Mit äußerster Vorsicht sind viele Angaben über das Vorkommen von Ameisensäure aufzunehmen. Man beschränkt sich meist auf die Feststellung einer Reduktionswirkung.

So soll — um einige interessante Angaben herauszugreifen — nach GORUP-BESANEZ[6]) in den Brennhaaren von Urtica Ameisensäure vorkommen. K. GOEBEL[7]) und F. CZAPEK[8]) geben als Wurzelsekret Ameisensäure an. Die Methodik des Nachweises ist aber nichts weniger als eindeutig. J. STOKLASA[9]) will nur in

[4]) Der mikro- und histochemische Nachweis von freier und gebundener Oxals., Bernsteins., Apfels., Weins. und Zitronens., Ztschr. physiol. Chem., **143**, 141 (1925).

[5]) Zur Physiologie organischer Säuren in grünen Pflanzen, Planta, **1**, 558 (1926); **3**, 765 (1927); **4**, 446 (1927); **7**, 503 (1929).

[6]) Über das Vorkommen von Ameisensäure in den Brennesseln, Journ. prakt. Chem., **48**, 191 (1893).

[7]) Pflanzenbiologische Schilderungen II, 1891, 211.

[8]) Zur Lehre von den Wurzelausscheidungen, Jahrb. f. wiss. Bot., **29**, 321 (1896).

[9]) Beiträge zur Frage der chem. Natur des Wurzelsekrets, Jahrb. f. wiss. Bot., **46**, 55 (1909).

anaerobem Milieu bei Wurzeln Ameisensäure festgestellt haben. H. MOLISCH[10]) bestreitet auf Grund seiner Versuche die Richtigkeit der Angaben über das Vorkommen von Ameisensäure in Wurzeln. Weiters gibt GOEBEL (l. c.) auch für das Sekret insektivorer Pflanzen Ameisensäure an. Schließlich gaben F. B. POWER und V. K. CHESNUT[11]) an, in Baumwollpflanzenblüten Butter-, Valerian- und Capronsäure gefunden zu haben.

Alle diese Angaben sind auf Grund makrochemischer Methoden gewonnen.

Das Programm der vorliegenden Arbeit wurde durch den Gesichtspunkt bestimmt, für alle mit Wasserdampf (unter gewöhnlichem Druck) flüchtigen aliphatischen Säuren, die sich in Pflanzen befinden, eindeutige Methoden der mikrochemischen Identifizierung zu finden.

In die Untersuchung wurden einbezogen die flüchtigen Fettsäuren $C_nH_{2n}O_2$ einschließlich der Caprylsäure, also: Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, n- und i-Buttersäure, n- und i-Valeriansäure, n- und i-Capronsäure, Heptylsäure (Oenanthylsäure) und Caprylsäure sowie die mit Wasserdampf gleichfalls etwas flüchtige Milchsäure.

Während gewöhnlich Verbindungen mit kleinerem Mol.-Gew. flüchtiger sind als solche (homologe) mit höherem Mol.-Gew., steigt bei den Fettsäuren die Flüchtigkeit mit der C-Zahl. Nähere quantitative Angaben finden sich in den Arbeiten von E. J. WITZEMANN[12]) und A. STEIN[13]). Es finden sich hier auch einige wichtige Details über den Einfluß von Neutralsalzen auf die Flüchtigkeit einzelner Säuren. Außer der molekularen Assoziation findet wahrscheinlich auch Hydratation der Säuren statt. Die Stabilität der Hydrate beim Siedepunkt nimmt mit steigender C-Zahl ab, die Flüchtigkeit nimmt entsprechend zu.

Eine fraktionierte Destillation der Säuren ist ziemlich aussichtslos, da die Siedepunkte verhältnismäßig nahe beisammenliegen und die Säuren im Gemisch überdestillieren.

In der vorliegenden Arbeit wurde das erstemal eine systematische Durcharbeitung der mikrochemischen Identifizierungsmöglichkeiten der flüchtigen Fettsäuren in Angriff genommen.

---

[10]) Mikrochemie der Pflanze, Jena 1923.

[11]) Journ. Amer. chem. Soc., **47**, 1751 (1925); **48**, 2721 (1926).

[12]) Journ. Amer. chem. Soc., **41**, 1946 (1919).

[13]) Gesetzmäßigkeiten bei der Wasserdampfdestillation org. Säuren. Journ. prakt. Chem., **88**, 83 (1913).

Die Hauptschwierigkeiten liegen darin, daß es sich um eine homologe Reihe handelt, daß diese nahe chemische Verwandtschaft auch in der Ähnlichkeit, bezw. im allmählichen Übergang der physikalischen Konstanten, die zur Unterscheidung herangezogen werden können, zum Ausdruck kommt.

Der einzige bisherige Versuch einer allgemeineren mikrochemischen Bearbeitung der Fettsäuren findet sich bei Behrens-Kley[14]). Wie sehr aber diese Angaben einer Überprüfung, bezw. Ergänzung bedürfen, haben die folgenden Untersuchungen gezeigt.

Neben Behrens-Kley sind bloß Untersuchungen über den mikrochemischen Nachweis der Essigsäure und Propionsäure zu nennen: D. Krüger und E. Tschirch[15]), wo sich die gesamte diesbezügliche ältere Literatur zusammengestellt findet: es werden die angegebenen Reaktionen geprüft, des näheren allerdings nur die Methode der Na-Uranylazetatfällung, die exakt ausgebaut wird. Weiters[16]) wird eine Tüpfelreaktion auf Essigsäure und Propionsäure angegeben, wo mit Lanthannitrat und Jod unter Zusatz von Ammoniak eine Blaufärbung auftritt. Molisch (l. c.) bemerkt zum Nachweis der flüchtigen Fettsäuren, daß die histochemische Erfassung sehr im argen liege und bespricht nur (im Anschluß an Behrens-Kley) den Nachweis der Ameisensäure mit Ceronitrat näher. Seine Versuche, bei Pflanzen, für die bei der makrochemischen Analyse Ameisensäure angegeben worden war, diese im Gewebe oder im Preßsaft nachzuweisen, ergaben ein negatives Resultat.

Alle sonstigen Angaben über den mikrochemischen Nachweis flüchtiger Fettsäuren (L. Rosenthaler[17]) bringen gegenüber Behrens nichts Neues. Eine Zusammenstellung neuerer Arbeiten findet sich bei Klein-Strebinger-Benedetti-Pichler[18]).

Eine Untersuchung des mikrochemischen Nachweises muß nach zwei Richtungen gehen: 1. Inwieweit läßt sich eine Trennung

[14]) Mikrochemische Analyse, 1923.

[15]) Der mikrochemische Nachweis der Essigsäure, Mikrochemie, **VII**, 318 (1929).

[16]) Tüpfelreaktionen auf Essigsäure und Propionsäure, Mikrochemie, **VIII**, 337 (1930).

[17]) Der Nachweis organischer Verbindungen, 1923; Grundzüge der chemischen Pflanzenuntersuchung, 1928.

[18]) Fortschritte der Mikrochemie, Wien 1927, S. 384.

(durch Lösungsmittel, Sublimation, Destillation usw.) durchführen und 2. lassen sich mehrere Säuren im Gemisch nebeneinander eindeutig erkennen?

Bei BEHRENS-KLEY sowie bei ROSENTHALER finden sich nähere Angaben über die Ausführung verschiedener Trennungsgänge.

Im Gegensatz dazu war das Hauptbemühen der folgenden Untersuchungen darauf gerichtet, festzustellen, inwieweit ein Nachweis mehrere Säuren nebeneinander möglich ist, bezw. inwieweit die Gegenwart mehrerer Säuren die Nachweismöglichkeiten jeder einzelnen beeinflußt.

Zur Identifizierung der Säuren kommen vor allem die Metallsalze in Betracht. Außerdem finden sich in der chemischen Literatur eine ganze Reihe von organischen Substitutionsprodukten von Fettsäuren angegeben:

Hydrazide und Benzylidenverbindungen (TH. CURTIUS[19]), Tetrachlorhydrochinonester (BOUVEAULT[20]), die große Reihe der Amide, Anilide, o- und p-Toluidide, o-Brom-p-Toluidide, β-Naphthylamide, α-Brom-β-Naphthylamide, p-Bromanilide und Tribromanilide. Die erste Darstellung und Untersuchung der meisten substituierten Amide wurde von PH. W. ROBERTSON[21]) durchgeführt mit der besonderen Zielstellung der Aufklärung der Unregelmäßigkeiten, die die Schmelzpunkte der Säurederivate zeigen. Es ergeben sich bei allen Substitutionsprodukten jene typischen Schmelzpunktskurven, wie sie schon das Anilid zeigt: die Säuren mit ungerader C-Zahl haben fast durchwegs einen niedrigeren Schmelzpunkt als die beiden benachbarten mit gerader C-Zahl, so daß die Schmelzpunktskurven einen Zickzackverlauf zeigen. Ebenso gab S. P. MULLIKEN[22]) eine eingehende Beschreibung der p-Toluidide und ihrer Darstellung im Halbmikromaßstab.

Von uns selbst wurde die Verwendbarkeit der Anilide, Hydrazide und Benzylidenverbindungen für Mikrozwecke geprüft.

I. Versuche zur Identifizierung der flüchtigen Fettsäuren als Anilide, Hydrazide und Benzylidenverbindungen.

1. Anilide.

Als Beispiel aus der großen Reihe der substituierten Amide wurde die Identifizierung der Säuren als Anilide versucht.

Die in der Literatur angegebenen Darstellungsmethoden gehen

[19]) Journ. prakt. Chem., 2. Folge, **64**, 401 (1901).

[20]) Compt. rend., **35**, 272 (1900).

[21]) Journ. chem. Soc., **115**, 1210 (1919).

[22]) A method for the identification of pure organic compounds, I. Vol., New York 1904.

von der freien konzentrierten Säure aus — eine Bedingung, wie sie bei der Untersuchung von Pflanzenmaterial wohl nie gegeben ist. Nach den ersten Versuchen mit den freien Säuren wurde daher die Darstellung von Acetanilid aus Kalzium- oder Ammonacetat versucht, durch Zugabe einer äquivalenten Menge Salzsäure und darauffolgendem gewöhnlichen Darstellungsgang: die Ausbeuten waren, besonders wenn von Ca-Acetat ausgegangen worden war, sehr gering. Salzsäure im Überschuß stört.

Zur Darstellung von Aniliden aus den freien Säuren existieren zwei Wege: 1. Über das Säurechlorid, 2. direkte Darstellung.

1. Durch Erhitzen mit Thionylchlorid $SOCl_2$ auf 100 bis 120° während einer Stunde bildet sich das Säurechlorid, aus dem durch Zusatz von Anilin beim Erhitzen auf etwas höhere Temperatur ($^1/_2$ Stunde) das Anilid entsteht. Da das Säurechlorid gegen Wasserdampf sehr empfindlich ist und sich zersetzt, wurde — von wenigen Versuchen abgesehen — mit dieser Methode nicht weiter gearbeitet.

2. Man erhitzt am besten äquivalente Mengen Säure und Anilin im zugeschmolzenen Rohr. Die Verwendung von überschüssigem Anilin hat einerseits den Vorteil, daß eine vollständigere Umsetzung der Säure zum Anilid erreicht wird, anderseits aber den großen Nachteil, daß die Reindarstellung des Anilids aus dem Gemisch Anilid-Anilin (das stark verharzt ist) um so schwieriger ist und mit um so größeren Verlusten verbunden, je mehr überschüssiges Anilin vorhanden ist: vermischt man aber äquivalente Mengen Säure und Anilin, so bildet sich nach Vollendung der Reaktion beim Erkalten eine feste (bei den niederen Säuren) oder mehr oder minder ölige Masse (bei den höheren Säuren), die zum größten Teil aus Anilid besteht, das durch verharztes Anilin schwarzbraun gefärbt ist.

Arbeitet man mit sehr kleinen Mengen, so ist es nötig, im zugeschmolzenen Rohr zu erhitzen, um alle Verluste zu vermeiden. Ist aber die Säure wasserhaltig, so ist die Darstellung im zugeschmolzenen Rohr schwer möglich, da durch Wasserdampf Spannungen entstehen. Handelt es sich um die Darstellung größerer Mengen, so empfiehlt sich die einfachere Arbeit am Rückflußkühler. Sehr brauchbar ist dazu der Mikroextraktionsapparat nach Klein-Tauböck.

Zur Reindarstellung der durch Anilin verunreinigten Anilide sind wieder zwei Wege gangbar:

1. Durch Destillation, bezw. Sublimation. Das beim Kochen erhaltene Produkt wird in Schalen durch Abdampfen vom überschüssigen Anilin befreit. Die Schwierigkeit, die sich besonders bemerkbar macht, wenn größere Mengen Anilin vorhanden sind, besteht darin, den Punkt zu erkennen, wo das Anilin schon genügend abgedampft ist und mit der Sublimation begonnen werden soll. Überschreitet man diesen Punkt, so treten große Verluste an Anilid auf. Versuche mit bekannten Mengen Acetanilid (0,05 bis 0,5 g), mit der sechs- bis zwölffachen Menge Anilin vermischt, woraus dann das Acetanilid wiedergewonnen wurde, ergaben Ausbeuten, die zwischen 30 und 80% schwankten. Hat man mit der äquivalenten Menge Anilin gekocht, so besteht (bei den niederen Säuren wenigstens) diese Schwierigkeit nicht oder sie ist minimal. Die vorliegende feste Masse ist nur durch dunkles, verharztes Anilin verunreinigt, das (bei nicht allzu hoher Temperatur) nicht destilliert, sondern als dunkle amorphe Masse zurückbleibt. Ganz allgemein kann man den Punkt, wo kein überschüssiges Anilin mehr vorhanden ist, daran erkennen, daß die Masse beim Erkalten vollständig erstarrt. War dieser Zustand erreicht, so wurde auf die Schale eine Glasplatte aufgelegt und mit der Sublimation begonnen.

Die Anilide sublimieren in Form rein weißer Kristalle (eventuell ist eine Wiederholung der Sublimation nötig). Wichtig ist, daß eine bestimmte, bei den einzelnen Aniliden etwas verschiedene Temperatur genau eingehalten wird, da sonst — bei zu hoher Temperatur — auch das verharzte Anilin sublimiert. Es ergibt sich folgende Regel für die Sublimation, die die Abhängigkeit von der Schmelzpunkttemperatur aufzeigt: Hohe Schmelzpunkttemperatur und möglichst tief darunterliegender Sublimationspunkt bedingen leichte Sublimation, die meist schon das erstemal zu reinen Substanzen führt. Liegt aber der Schmelzpunkt tiefer oder fallen beide ziemlich nahe zusammen, so ist die Reinigung durch Sublimation langwierig und schwierig. Acetanilid ist ein Beispiel für den ersteren Fall, n-Valeranilid oder Heptylanilid sind typische Beispiele für den letzteren.

Versuche im Vakuum, das überschüssige Anilin abzudestillieren, zeigten dieselbe Schwierigkeit wie bei gewöhnlichem Druck.

Mit Essigsäure wurde die Erfassungsgrenze als Acetanilid zu bestimmen versucht. Bei der Darstellung im kleinen,

zugeschmolzenen Röhrchen lassen sich noch kleinste Tröpfchen (5 bis 10 mg) Säure erfassen. Bei den anderen Säuren liegt die Erfassungsgrenze jedenfalls etwas weniger hoch, wurde aber nicht für jede einzelne Säure bestimmt.

Im allgemeinen waren die Ausbeuten bei Vermeidung eines Anilinüberschusses recht hoch: 80 bis 90%. Wurde aber ein Überschuß verwendet, so sank die Ausbeute meist beträchtlich tiefer.

2. Die andere Methode der Reindarstellung erwies sich für die Arbeit mit kleinen Säuremengen als unbrauchbar: die Verluste sind zu groß. Das Gemisch Anilin-Anilid wird mit Wasser aufgekocht. Das Anilid löst sich beträchtlich im heißen Wasser, während sich das Anilin darin bedeutend weniger löst. Es wird heiß durch ein mit Wasser angefeuchtetes Filter filtriert, das Anilin bleibt am Filter zurück. Im Filtrat fällt das Anilid beim Erkalten aus. Da das Anilid in Anilin sehr leicht löslich ist, muß der Vorgang wiederholt werden, führt aber doch nie zu ähnlichen Ausbeuten, wie sie durch die Sublimationsmethode erhalten wurden.

Ein ganz anderes Verhalten, als es für Acetanilid und die höheren Homologen im allgemeinen besprochen wurde, zeigt das Formanilid. Es fällt beim Zusammenbringen von Ameisensäure und Anilin sofort unter starker Wärmeentwicklung aus. Jeder Überschuß von Anilin ist zu vermeiden, da es darin sehr leicht löslich ist. Unverständlich scheint die Angabe von HOFMANN[23]), der Ameisensäure mit Anilin kocht und andere flüchtige Stoffe durch Erhitzen auf 250° im Vakuum entfernt und dann im Exsikkator erstarren läßt. Formanilid ist leicht zersetzlich. Beim Kochen (gewöhnliche Darstellungsweise der Anilide) wurde nichts erhalten.

Auch aus Milchsäure konnte nie ein Kristallprodukt erhalten werden.

Im folgenden einige Angaben über die physikalischen Konstanten der Anilide:

Die Löslichkeitsverhältnisse sind auffallend gleichförmig. In Methyl-, Äthyl-, Butyl- und Amylalkohol sind die Anilide leicht löslich, besonders in den beiden ersteren, ebenso in Aceton und Essigester. Weniger gut löslich sind sie in Tetrachlorkohlenstoff, Toluol und Xylol. Die Kristalle, die aus den schnell verdunstenden Lösungsmitteln entstehen (am Objektträger oder Urschälchen)

[23]) Ztschr. Chem., 1866, S. 101.

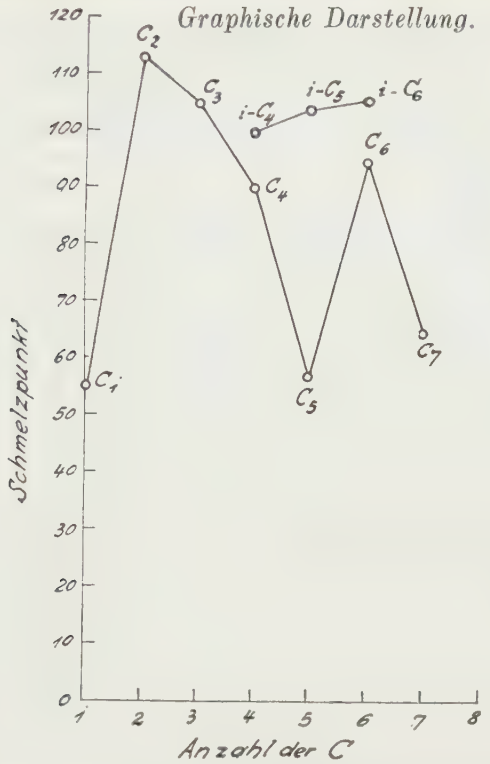
sind ganz uncharakteristisch. Aus Toluol und Xylol kristallisieren die meisten Anilide in recht scharf ausgebildeten Kristallen, ähnlich denen, wie sie bei der Sublimation entstehen. In Petroläther sind die Anilide durchweg nur sehr wenig löslich. (Acet- und Propionanilid weniger als 1 : 10.000 löslich, die höheren Anilide unterscheiden sich nicht allzuviel davon.) In kaltem Wasser sind die Anilide fast unlöslich, in heißem Wasser lösen sie sich recht beträchtlich. Eine Trennungsmöglichkeit — auch nur einzelner Gruppen — von Aniliden auf Grund der Löslichkeit besteht also nicht.

Eine zweite wichtige Konstante ist der Schmelzpunkt. Darüber wurde bereits eingangs gesprochen: die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Schmelzpunkte. Bemerkenswert erscheinen die teilweise sehr weitgehenden Differenzen der Literaturangaben. Zur Überprüfung dieser Angaben wurde neben dem Mikroschmelzpunkt auch der Makroschmelzpunkt bestimmt. Im allgemeinen war gute Übereinstimmung festzustellen. Die Schmelzpunkte erstrecken sich immer über ein Intervall von 6 bis 7°, sind also sehr unscharf. In der Tabelle wurde jene Temperatur angegeben, bei der die Kristalle eben vollständig zerflossen. Am augenfälligsten zeigt die graphische Darstellung, daß die Schmelzpunkte zur Identifizierung unbrauchbar sind, da sie zu nahe beieinander liegen (7 Anilide im Intervall von 90 bis 112°).

Tabelle 1.

Schmelzpunkte der Anilide.

	Literatur	makro-	mikro-
Formanilid . . .	46°, 64°	64°	55?
Acetanilid . . .	112°, 115°	112—113°	113—114°
Propionanilid . .	105—106°	105°	105°
n-Butyranilid . .	90°, 92°	89—90°	90°
i-Butyranilid . .	105°	100—101°	99—100°
n-Valeranilid . .	61°, 64—65°	62—63°	57°
i-Valeranilid . .	109—111°	103—104°	103—104°
n-Capronanilid .	95°	95°	95°
i-Capronanilid .	—	105—106°	106—107°
Heptylanilid . .	65°, 70—71°	65—66°	65—66°



Versucht wurde auch die Trennung durch fraktionierte Sublimation, sowohl im Vakuum als auch bei gewöhnlichem Druck. Folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Temperaturen, bei denen die Anilide eben zu sublimieren beginnen (bei 15 mm Druck im Vakuummikrosublimationsapparat nach KLEIN-WERNER).

Tabelle 2. *Sublimationspunkte der Anilide.*

Formanilid	unter 25°
Acetanilid	30°
Propionanilid	40°
n-Butyranilid	45—48°
i-Butyranilid	40°
n-Valeranilid	62—65°
i-Valeranilid	50°
n-Capronanilid	60—65°
Heptylanilid	70°

Es zeigt sich, daß die Sublimationstemperatur mit der C-Zahl steigt. Wenn man bedenkt, daß die angegebenen Werte nur den Punkt des Beginnes der Sublimation anzeigen, so erkennt man, daß sich die Sublimationsbereiche der meisten Anilide überschneiden. Eine Trennung durch Vakuumsublimation ist also vollständig ausgeschlossen.

Entsprechendes gilt natürlich auch von der Sublimation unter normalem Druck: Alle Anilide sublimieren etwa in dem Bereich von 70 bis 100°.

Auf Grund der Löslichkeitsverhältnisse, der Schmelzpunkts- und Sublimationstemperaturen kann gesagt werden, daß eine Abtrennung oder Unterscheidung von Aniliden, wenn sie sich im Gemisch nebeneinander vorfinden, vollkommen unmöglich ist, wenigstens für den Fall, wo es sich um geringe Mengen handelt.

Liegen aber einzelne Anilide vor, so liefert bei den meisten die Kristallform, wie sie bei der Sublimation erhalten wird, ein ganz eindeutiges Merkmal zur Erkennung. Besonders die Makrokristalle (4 bis 5 mm durchschnittlich groß), wie sie sich bei der Sublimation bei 2 bis 3 cm Sublimationshöhe frei ausbilden, zeigen fast für jedes Anilid charakteristische Kristallformen und einen sehr charakteristischen Gesamthabitus.

Den Makrokristallen im Grunde ähnlich sind die Kristalle, wie sie bei der Sublimation am hohlen Objektträger mit oder ohne aufgesetztem Ring entstehen. Bei allen Aniliden mit Ausnahme von n-Valer- und Heptylanilid geht die Sublimation ohne größere Schwierigkeiten von statten. Bei den erwähnten beiden anderen Aniliden entstehen nur bei sehr guter Kühlung des Deckglases Kristalle, ohne Kühlung sublimieren die beiden Anilide nur in Tröpfchen an das Deckglas an. Diese Tröpfchenbildung ist oft auch bei anderen Aniliden zu beobachten. Anscheinend sind gewisse Kristallisationszentren nötig zur Ausbildung von Kristallen. Reiben mit einem Glasstab bewirkt oft die Kristallbildung.

Im folgenden sollen die einzelnen Anilide in ihren Makro- und Mikrosublimationsformen besprochen werden.

Formanilid (Abb. 1). Fp. 64°, Hofmann gibt 46° an!

Gibt nur bei der Mikrovakuumsublimation scharf ausgebildete

Kristalle. Kleine, dicke, stark lichtbrechende Prismen. Gerade Auslöschung. In Wasser sehr leicht löslich.

Acetanilid (Abb. 2). Fp. 113 bis 114°.

In Wasser (6°) 1 : 189 löslich, in Wasser von 100° 1 : 18. Die makroskopisch sichtbaren Kristalle sind ungemein charakteristisch und lassen Acetanilid von allen anderen Aniliden leicht unterscheiden. Dünne, blättrige Kristalle von langgestreckter Rechteckform, fast immer in Aggregaten. Mehrere Millimeter bis 1 cm groß. Bei der Mikrosublimation entstehen ähnliche rechteckige Kristalle, bezw. Kristallaggregate (15 bis 20 μ). In der Mitte des Sublimats entstehen Aggregate aus kurzen Rechtecken, am Rande Formen aus langen, dünnen Prismen. Selten sind dicke, kurze Prismen.

Propionanilid. Fp. 105°.

In Wasser 1 : 240 löslich. Makrosublimation: Ganz feine, flügelig-flaumige Kristalle, noch dünner als die Kristalle von Acetanilid. Ganz unregelmäßig begrenzt. Bis mehrere Millimeter groß. Ganz anderer Habitus als Acetanilid. Mikrosublimation: Kristallaggregate ähnlich den Makrokristallen, nur selten treten längere, dünne, regelmäßig ausgebildete Prismen auf. Sehr leicht von allen übrigen Aniliden zu unterscheiden (besonders als Makrokristalle). Die langen Prismen, die sich neben kurzen Kristallformen bei der Mikrosublimation bilden, zeigen einige Ähnlichkeit mit i-Valeranilid.

n-Butyranilid (Abb. 3). Fp. 90°.

Sowohl bei der Makro- als auch bei der Mikrosublimation entstehen sehr regelmäßige Kristalle oder Kristallaggregate aus (meist) dünnen, quadratischen oder sehr kurzen rechteckigen Formen. Keine Doppelbrechung! Von allen Aniliden in der Kristallform ganz eindeutig unterschieden. Wie auch bei den vorbesprochenen Aniliden, so entstehen bei n-Butyranilid aus Toluol ähnliche typische Kristalle.

i-Butyranilid (Abb. 4). Fp. 99 bis 100°.

Die Makrosublimation ergibt seidig-fädige Kristalle bis 1 cm lang, die sich unter dem Mikroskop als mehr oder minder dicke, sehr stark lichtbrechende, lange, monokline Prismen (6° schiefe Auslöschung) erweisen, oft peitschenförmig gebogen. Die Mikrosublimation ergibt ein ähnliches Bild aus unregelmäßig gitterartigen Kristallaggregaten. Charakteristisch gegenüber den anderen Aniliden sind die peitschenförmigen Kristalle.

n-Valeranilid. Fp. 65°.

Auch im Mikrovakuumsublimationsapparat werden nur Kristallaggregate aus sehr undeutlich ausgebildeten langen Prismen erhalten.

i-Valeranilid. Fp. 103 bis 104°.

Makrosublimation: Flache, lange Prismen, ziemlich unregelmäßig begrenzt (nicht seidig-fädig wie i-Butyranilid). Bis 6 bis 7 mm groß. Ähnliche dünne Prismen (6 bis 7° schiefe Auslöschung), unregelmäßig durcheinanderliegend, bis 200 μ lang, entstehen bei der Mikrosublimation. Aus Toluol sehr schöne Prismen.

n-Capronanilid. Fp. 95°.

Die Kristalle, die sich bei der Makro- und Mikrosublimation bilden, stehen dem Habitus nach etwa in der Mitte zwischen i-Butyr- und i-Valeranilid. Dünne, lange, nadelförmige Kristalle, nie peitschenförmig. Nicht immer leicht und eindeutig (besonders die Mikrokristalle) von den beiden anderen Aniliden zu unterscheiden. Monoklin. 7° schiefe Auslöschung.

i-Capronanilid (Abb. 5). Fp. 105 bis 106°.

Die Kristalle, die sich sehr leicht ausbilden — die Reindarstellung durch Sublimation ist ohne jede Schwierigkeit durchzuführen — sind von n-Capronanilid in der Form nicht zu unterscheiden, auch von i-Valeranilid schwer auseinanderzuhalten. Bei der Makrosublimation bilden sich bis über 1 cm lange Kristallspieße, ähnliche kleine, dünne Kristalle bilden sich bei Mikrosublimation. Auslöschung parallel zur Längsrichtung.

Heptylanilid. Fp. 65 bis 66°.

Gut ausgebildete Kristalle sind kaum zu erhalten. Ähnliches Verhalten wie n-Valeranilid.

Gemische von zwei Aniliden — es wurden einzelne Stichproben gemacht — geben bei der Sublimation nur Tropfen oder vollständig uncharakteristische Kristallaggregate, die höchstens andere, nicht vorhandene Anilide (i-Valeranilid) vortäuschen.

Zusammenfassend läßt sich über die Anilide sagen, daß sie zur Identifizierung von flüchtigen Fettsäuren, falls sie zu mehreren im Ge-

misch vorliegen, nicht brauchbar sind. Brauchbar sind sie dagegen zur Identifizierung einer Reihe von Säuren im Halbmikroverfahren, falls sie einzeln vorliegen. Kristallform des Sublimats, eventuell Kontrolle durch den Schmelzpunkt: Essig-, Propion-, n- und i-Buttersäure. Dagegen sind i-Valerian-, n- und i-Capronsäure nicht eindeutig voneinander zu unterscheiden. Für den eigentlich mikrochemischen Nachweis kleinster Mengen flüchtiger Fettsäuren kommen die Anilide auf Grund ihrer Darstellungsweise nicht in Betracht.

Ähnlich steht es mit der Brauchbarkeit anderer substituierter Amide, was schon aus den zum Teil bekannten physikalischen Konstanten herauszulesen ist.

Für die p-Toluidide ($R \cdot CO \cdot NH \cdot C_6H_4 \cdot CH_3$) war bereits von MULLIKEN (l. c.) ein Halbmikroverfahren ausgearbeitet worden, das von den Alkalisalzen der Fettsäuren ausgeht, aber nicht weniger als 0,1 g Salz nachzuweisen gestattet. Dem Nachweis kleinerer Mengen steht wieder der verhältnismäßig komplizierte Darstellungsgang entgegen. Die Methode wurde an einigen Beispielen überprüft.

Das Natriumsalz wird mit einer entsprechenden Menge konz. Salzsäure und überschüssigem Toluidin ein bis zwei Stunden lang in einer kleinen Eprouvette möglichst vorsichtig erhitzt, so daß sich das überschüssige Toluidin immer im oberen Teil des Röhrchens kondensiert. Die Abtrennung vom gebildeten NaCl geschieht nach dem Erkalten durch Lösen in wenig Alkohol; die Trennung des Toluidids vom überschüssigen Toluidin und der gebildeten harzartigen, braunen Masse durch Aufkochen in überschüssigem Wasser und durch Filtrieren am Wasserbad. Am Filter bleibt die verharzte Masse zurück, im Filtrat fällt das nur in heißem Wasser leicht lösliche p-Toluidid allmählich aus. Die weitere Identifizierung erfolgt durch Schmelzpunktbestimmung.

Die Methode ist zur Identifizierung von Essigsäure, Propionsäure und i-Buttersäure recht gut geeignet. Ameisensäure gibt hauptsächlich Oxalsäure-p-Toluidid. Der Schmelzpunkt der übrigen Toluidide liegt zwischen 70 und 80°, kann also zur Identifizierung kaum herangezogen werden.

Eine einwandfreie Identifizierung der drei Säuren ist nach MULLIKEN auch im Fall geringer Beimengungen von homologen Säuren noch möglich. In diesem Falle reinigt man das Azet-p-Toluidid durch Umkristallisieren aus heißem Benzol. Dies ermöglicht eine gute Trennung von den harzigen Körpern und von den Homologen. Die übrigen Säure-p-Toluidide können auch durch Umkristallisieren aus heißem Petroläther gereinigt werden.

Tabelle 3.

Schmelzpunkte der Säure-p-Toluidide.

	Mulliken	Robertson
Ameisensäure	—	—
Essigsäure	148°	153°
Propionsäure	123,5—124,5°	126°
n-Buttersäure	72,5— 73,5°	75°
i-Buttersäure	104—105°	—
n-Valeriansäure	—	74°
i-Valeriansäure	—	—
Capronsäure	—	73°
Heptylsäure	—	80°
Caprylsäure	—	70°

2. Hydrazide und Benzylidenverbindungen.

Die Darstellung dieser Verbindungen geht über den Fettsäureester zum Fettsäurehydrazid und aus diesem läßt sich dann das Benzalfettsäurehydrazid darstellen:

$R . COOH + C_2H_5OH \rightarrow RCOO . C_2H_5$

$RCOOC_2H_5 + NH_2NH_2 \rightarrow RCO . NHNH_2$

$RCO . NHNH_2 + C_6H_5COH \rightarrow RCO . NHN : CHC_6H_5$

Für die Esterbildung wurde folgender einfacher Weg eingeschlagen, da die verschiedenen makrochemischen Esterifizierungsverfahren wegen der geringen Ausgangsmengen nicht in Betracht kamen. Zu einer bestimmten Menge trockenen Alkalisalzes der Fettsäuren in einem Proberöhrchen wurde die doppelte bis dreifache Menge absoluten Alkohols gefügt und dann langsam etwa die 1½fache Menge konz. H_2SO_4 zutropfen gelassen, wobei der Alkohol sich bis zum Sieden erhitzt. Gewöhnlich tritt schon nach wenigen Minuten der Estergeruch auf. Das Proberöhrchen bleibt dann gekühlt 24 Stunden zugekorkt stehen. Nach dieser Zeit wird der gebildete Ester durch Zugabe von so viel Wasser, daß sich das gebildete Alkalisulfat gerade darin löst, zur Abscheidung gebracht. Die Esterschicht wird dann, wenn nur sehr wenig vorhanden ist, mittels eines langen, zu einer Kapillare ausgezogenen Röhrchens möglichst frei von der übrigen Flüssigkeit abpipettiert, in ein ganz dünnes Röhrchen gebracht, und kann nun aus diesem, nachdem sich eventuell mitgegangene andere Flüssigkeit abgeschichtet hat, rein zur weiteren Verarbeitung herauspipettiert werden. Dieses Abscheiden mittels Wasser läßt sich natürlich nur

für die Fettsäureäthylester von der Propionsäure aufwärts durchführen, da Ameisen- und Essigester sich mit Wasser mischen. Die letzteren beiden lassen sich aus dem Gemisch daher nur durch Destillation gewinnen und auch dann nur mit Alkohol vermengt, so daß ihre Darstellung und damit auch die der entsprechenden Hydrazide und Benzylidenverbindungen aus kleinen Ausgangsmengen nicht durchgeführt werden konnte.

Die kleinste Menge Fettsäurealkalisalzes, aus der sich noch reiner Ester für die Weiterverarbeitung zum Hydrazid gewinnen läßt, ist etwa 50 mg. Die Ester sind bis auf den Caprylsäureester farblos, dieser war, so oft er auch gewonnen wurde, immer gelblich gefärbt. Auf Grund ihres Geruches läßt sich schon annähernd sagen, welche Säure vorliegt, bezw. in einem Gemisch vorherrscht. Auf Grund ihrer Löslichkeit in verschiedenprozentigen Alkohol-Wassergemischen lassen sie sich ungefähr voneinander trennen.

Während die Bildung von Form- und Azethydrazid noch sehr leicht vor sich geht, und zwar durch ein- bis zweistündiges Erhitzen des Säure-Hydrazinhydratgemisches im zugeschmolzenen Rohr im Wasserbad, sind dann mit steigender Kohlenstoffzahl höhere Temperaturen und immer längere Reaktionsdauer für die Bildung notwendig. So schreibt Curtius (l. c.) für Propionsäurehydrazid sechs- bis achtstündiges Kochen, für i-Valeriansäurehydrazid zwölfstündiges Kochen, Stolle-Zinsser[24]) für Buttersäurehydrazid dreitägiges Kochen am Rückflußkühler vor.

Wie vorauszusehen ist, bildet sich aus dem Fettsäureester-Hydrazinhydratgemisch neben dem Mono-Säurehydrazid auch ein Disäurehydrazid. Es wird das Entstehen dieser Verbindung als Nebenprodukt in der Literatur auch erwähnt und Curtius (l. c.) bekommt bei der Darstellung des Propionsäurehydrazids zu 10% der Ausbeute an diesem das Di-Propionsäurehydrazid.

Bei den geringen Mengen, die für die vorliegende Arbeit in Betracht kamen, wurde immer im zugeschmolzenen Rohr erhitzt. Und zwar wurde der Ester in ein dickwandiges Röhrchen gegeben, etwas mehr als das gleiche Volumen Hydrazinhydrat hinzugefügt, das Röhrchen in eine Kapillare ausgezogen, zugeschmolzen und in ein Ölbad gehängt. Dieses wurde bei Propionsäure auf 130 bis 140°

[24]) Journ. prakt. Chem., **69**, 486 (1904).

und dann, für die einzelnen Säuren steigend, bis zu 180 bis 190° bei der Caprylsäure, so lange erhitzt, bis der Inhalt des Röhrchens, unter fließendem Wasser abgekühlt, zu einer seidig glänzenden, weißlich durchsichtigen Kristallmasse erstarrte. Dies ist gewöhnlich nach zirka drei Stunden der Fall. Auf dieser Kristallmasse schwimmt immer noch eine dünne Flüssigkeitsschichte von überschüssigem Ester, bezw. überschüssigem Hydrazinhydrat. Das Röhrchen wird dann aufgeschnitten, der Inhalt auf ein kleines Uhrgläschen gebracht und in den Vakuumexsikkator gestellt. Daselbst erstarrt das Reaktionsprodukt, das in dem überschüssigen Ester, bezw. Hydrazinhydrat zum Teil gelöst war, zu einer weißen Masse.

Bei dieser Art der Hydraziddarstellung, die ja unter höherem Druck und höherer Temperatur als bei der sonst üblichen Darstellung vor sich geht, entsteht das Di-Säurehydrazid zu einem weitaus größeren Prozentsatz. Auch ein verhältnismäßig großer Überschuß von Hydrazin hemmt die Bildung des Di-Säurehydrazids kaum.

Da die Schmelzpunkte dieser beiden Reihen von Verbindungen der Mono-Säurehydrazide einerseits, der Di-Säurehydrazide anderseits (vergl. Tabelle 4 und 5) um zirka 100 bis 120° auseinanderliegen und beide von einer Temperatur an, die etwas unterhalb des Schmelzpunktes liegt, sublimieren, lassen sie sich sehr schön durch Sublimation trennen. Diese Trennung wurde immer am Objektträger mit Glasring und Deckglas am Mikroschmelzpunktapparat durchgeführt.

Tabelle 4.

Schmelzpunkte der Mono-Säurehydrazide.

	Literatur	Gefunden mit
Ameisensäure	54°	—
Essigsäure	62°	—
Propionsäure	40°	—
n-Buttersäure	44°	—
i-Buttersäure	104°	—
n-Valeriansäure	—	57—58°
i-Valeriansäure	68°	—
n-Capronsäure	—	85°
Heptylsäure	—	78°
Caprylsäure	—	74°

Tabelle 5.

Schmelzpunkte der Di-Säurehydrazide.

	Literatur	Gefunden mit
Ameisensäure	159—160°	—
Essigsäure	Wasserfrei : 140°	—
	mit 1 H_2O : 80—100°	—
Propionsäure	136°	—
n-Buttersäure	162—163°	—
i-Buttersäure	—	200°
n-Valeriansäure . . .	—	—
i-Valeriansäure . . .	182°	182°
n-Capronsäure . . .	159°	—

Die Hydrazide der niedersten Glieder der Fettsäurereihe kommen wegen ihrer stark hygroskopischen Eigenschaften und der niederen Schmelzpunkte für uns nur als Zwischenprodukt für die Darstellung der Benzylidenverbindungen in Betracht.

Die Benzylidenverbindungen entstehen durch Zugabe von Benzaldehyd zur wäßrigen Lösung des Säurehydrazids. Doch geht ihre Bildung mit steigender Kohlenstoffzahl schwerer vor sich. Während sich die Ameisen-, Essig- und Propionsäurebenzylidenverbindungen nach wenigen Minuten unter Erwärmen bilden, entstehen die Benzylidenverbindnugen der höheren Säuren oft erst nach mehrtägigem Stehen. Von Capron-, Heptyl- und Caprylsäure konnte eine Benzylidenverbindung überhaupt nicht dargestellt werden und es liegen auch in der Literatur keine Angaben über sie vor.

Da auch die Benzylidenverbindungen der Ameisensäure und Essigsäure wegen der Schwierigkeit der Reindarstellung der Ester für uns nicht in Betracht kommen (außerdem liegen auch ihre Schmelzpunkte beide bei 134°), bleiben für unsere Arbeit nur die Benzylidenverbindungen der Propionsäure, beider Butter- und beider Valeriansäuren von Bedeutung.

Wenn das Säurehydrazid noch durch etwas überschüssiges Hydrazinhydrat verunreinigt ist, so bildet sich auf Zugabe von Benzaldehyd neben dem Benzalfettsäurehydrazid noch Benzaldazin (Dibenzalhydrazid), das aus Alkohol in schönen gelben Prismen auskristallisiert. Die Reinigung von diesem Benzaldazin sowie von

etwa überschüssigem Benzaldehyd erfolgt am besten mittels kochenden Wassers, in dem sich das Benzalfettsäurehydrazid löst und von Benzaldazin (Fp. 93°), das in kochendem Wasser schmilzt, sich aber nicht löst, und vom Benzaldehyd abfiltriert werden kann. Das Filtrieren muß durch ein erhitztes Filter, am besten am Wasserbad, geschehen, da die Benzylidenverbindungen schon wenige Grade unter dem Siedepunkt aus dem Wasser ausfallen. Beim langsamen Abkühlen, und wenn reichlich Benzylidenverbindung vorliegt, trübt sich das Wasser sofort milchig und es fallen nach einiger Zeit schöne, radial gegliederte Nadelaggregate aus.

Diese werden im Exsikkator getrocknet und mit Hilfe ihres Schmelzpunktes (vgl. Tab. 6) identifiziert.

Tabelle 6.

Schmelzpunkte der Benzylidenverbindungen.

	Literatur	Gefunden mit
Ameisensäure	134°	134°
Essigsäure	134°	134°
Propionsäure	115°	115°
n-Buttersäure	97°	97°
i-Buttersäure	103°	103°
n-Valeriansäure	—	72°
i-Valeriansäure	95°	90°

Zusammenfassend ergeben sich folgende Möglichkeiten für die Identifizierung einzelner Säuren:

Ameisensäure: —
Essigsäure: —
Propionsäure: *Benzylidenverb. Di-Säurehydrazid.*
n-Buttersäure: „ „
i-Buttersäure: „ „
n-Valeriansäure: „ *Mono-Säurehydrazid*
i-Valeriansäure: „ „ „ „
n-Capronsäure: „ „
Heptylsäure: „ „
Caprylsäure: „ „

Gustav Klein und Hans Wenzl. Der mikrochemische Nachweis flüchtiger Fettsäuren in der Pflanze. I.

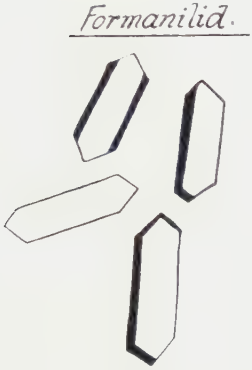


Abb. 1.

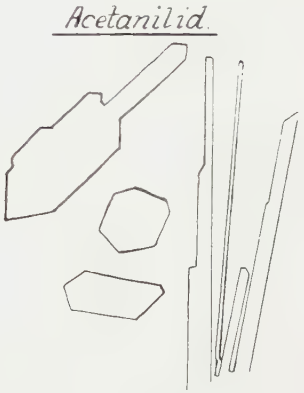


Abb. 2.

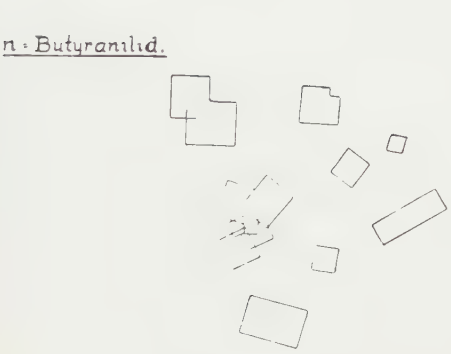


Abb. 3.

Abb. 4.

Abb. 5.

Verlag von **Emil Haim & Co., Wien und Leipzig.**

Zusammenfassung.

Die Überprüfung einer Reihe von organischen Substitutsprodukten auf ihre Brauchbarkeit zur Identifizierung der flüchtigen Fettsäuren ergab wohl für die meisten im Halbmikroverfahren ein positives Ergebnis. Mikrochemisch, zum Nachweis kleinster Mengen aber sind die untersuchten Derivate einerseits wegen der schwierigen Darstellungs- und Reinigungsmethoden, anderseits wegen des eigentümlichen, für die Säurederivate charakteristischen Schmelzpunktverlaufes unbrauchbar, wohl aber in manchen Fällen gut brauchbar zur eindeutigen Erkennung von Säuren, wenn sie einzeln in relativ größerer Menge (50 mg) vorliegen.

Über die weit positiveren Ergebnisse einer eingehenden mikrochemischen Untersuchung einer Reihe von anorganischen Salzen soll demnächst in weiteren Mitteilungen berichtet werden.

Notiz über Mikrodestillation.

Von **Kazimierz Lindenfeld.**

Aus dem Institut f. pharmazeut. u. toxikol. Chemie der Universität in Warschau.

(Eingelangt am 11. Juli 1931.)

Es kommt vor, daß bei niedrigerer Temperatur bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Substanzen während weiteren Trocknens bei höherer Temperatur wieder an Gewicht verlieren. In manchen derartigen Fällen erscheint eine nähere Untersuchung der flüchtigen Substanz wünschenswert.

Um hierfür Untersuchungsmaterial zu erhalten, kann man in folgender Weise verfahren. Aus einer Glasröhre von zirka 11 mm Außenweite und zirka 1 mm Wandstärke bläßt man eine Kugel vom Inhalt einiger Kubikzentimeter aus; an die Kugel wird ein etwa 2 mm starker und 5 bis 6 cm langer Glasstab angelötet (Fig. 1). Darauf wird in das gewaschene und getrocknete Gefäß 1 bis 2 g des zu untersuchenden Materials gebracht, die Halswand mit Watte gereinigt und dann der Kölbchenhals in eine ziemlich starkwandige, etwa 8 cm lange und 2 bis 3 mm weite Kapillare ausgezogen, indem man das Kölbchen am Glasstab hält. Die Kapillare wird endlich dicht bei dem Ansatz gebogen und das offene Ende zugelötet (Fig. 2); der Glasstab kann jetzt selbstverständlich abgeschnitten werden.

Falls eine Vakuumdestillation erforderlich ist, evakuiert man den Apparat vor dem Zulöten der Kapillare; die Verbindung mit der Vakuumpumpe wird durch die in Fig. 2 punktiert gezeichnete Ausziehform der Kapillare erleichtert. Das ganze, die Substanz enthaltende Kölbchen wird erwärmt, indem man es in ein geeignetes Bad eintaucht; die Kapillare kühlt man in einem Reagenzglas mit Kältemischung (in meisten Fällen genügt kaltes Wasser).

Das Destillat sammelt sich in der Kapillare. Nach beendeter Destillation wird die Kapillare am Kölbchenhals abgeschnitten, dann einer Zentrifugierung unterworfen (um die den Wänden an-

Fig. 1.

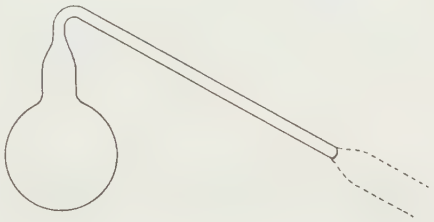


Fig. 2.

haftenden Tröpfchen zu sammeln), worauf man das offene Kapillarende zulötet.

Ich war imstande, auf diese Weise eine zur weiteren mikrochemischen Untersuchung ausreichende Destillatmenge zu erhalten, indem ich der Destillation 1 g einer Substanz unterwarf, die während des Trocknens bei 100° nur 1% an Gewicht verlor.

Ein kapillarchemischer (Mikro-) Silbernachweis.

Von **G. Ettisch** und **J. Tamchyna.**

Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für physikalische Chemie und Elektrochemie, Berlin-Dahlem.

(Eingelangt am 11. Mai 1931.)

Das Auftreten kolloider Zustände oder kapillarchemischer Erscheinungen verursacht in der analytischen Chemie vielfach unerwünschte Störungen. Es sind aber auch gegenteilige Fälle bekannt, solche, wo gerade etwa die Adsorption ein wertvolles Hilfsmittel der Analytik darstellt[1]). Wir möchten hierzu ein Beispiel liefern. Es ist nämlich möglich, über einen Adsorptionsvorgang den empfindlichen Silbernachweis mit p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin nach F. Feigl[2]) derart zu verschärfen, daß damit Silber noch in einer Verdünnung von 1 : 40,000.000 einwandfrei zu erkennen ist.

Das Prinzip der für den Nachweis erforderlichen adsorptiven Anreicherung ist niedergelegt in einer Mitteilung, die vor kurzem Ettisch, Domontowitsch und v. Mutzenbecher veröffentlicht haben[3]). Sie beschäftigt sich mit dem Verhalten amphoterer Stoffe gegenüber Kollodium- und anderen Membranen. Es konnte hierbei gezeigt werden, daß e r s t e n s diese Membranen amphotere Stoffe aufnehmen. Dieses geschieht, was thermodynamisch zu fordern ist, in maximaler Menge am isoelektrischen Punkt des betreffenden

---

[1]) Vergl. hierzu F. Feigl, Qualitat. Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, Leipzig 1931.

[2]) F. Feigl, Ztschr. analyt. Chem., **74**, 380 (1928).

[3]) Ettisch, G. Domontowitsch und v. Mutzenbecher, Naturwissenschaften, **18**, 447 (1930).

amphoteren Körpers. Ferner hat sich erwiesen, daß es gleichgültig ist, von welcher besonderen Natur der amphotere Stoff war. Er kann ein hochkomplizierter Eiweißkörper, er kann aber auch die einfachste Aminosäure, das Glykokoll, sein. Zweitens zeigte sich, daß der adsorbierte amphotere Stoff (Eiweiß gleichwie Aminosäure) noch fähig ist, Edelmetall (Ag, Au) zu binden. Die Einzelheiten dabei werden klar werden, wenn der Versuch beschrieben wird, der den Gegenstand dieser Arbeit bildet.

Vom analytischen Standpunkt aus bedeutet das soeben Erörterte, daß hier die Möglichkeit vorliegt, eine Konzentrierung etwa von Silber auf einer verhältnismäßig kleinen Oberfläche vorzunehmen. Silber im adsorbierten Zustande kann man aber analytisch sehr leicht nachweisen. Für diesen Nachweis hat sich, wie schon bemerkt, das Feigl'sche Silberreagens als sehr brauchbar erwiesen, nämlich das p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin.

Unsere Arbeitsmethodik gliedert sich demnach in zwei Abschnitte:

1. In die Herstellung der Membran samt deren Beladung mit dem amphoteren Körper, und

2. in den eigentlichen Silbernachweis mit Hilfe jener Membran.

Die Kollodiummembran wird folgendermaßen hergestellt: Äther-Alkohol-Kollodium von C. A. F. Kahlbaum („zur Herstellung von Membranen zur Dialyse") wird in möglichst dünner Schicht in eine Schale mit ebenem Boden ausgegossen, wobei die Schale auf einer Unterlage (Tisch) stehen muß, von deren Ebenheit man sich ebenfalls überzeugt hat. Ist dieses nicht der Fall, so erhält die Membran keine gleichmäßige Dicke. Auch Zugluft muß von der Oberfläche des ausgegossenen Kollodiums ferngehalten werden, damit Äther und Alkohol gleichmäßig verdunsten können. Stehen keine geeigneten Schalen zur Verfügung, so kann auch eine planparallele Spiegelglasplatte verwendet werden. Das ausgegossene Kollodium läßt man an der Luft so lange trocknen, bis bei schräger Aufsicht auf der gesamten Membranoberfläche die erhabenen Rippen eines chagrinartigen Musters auftreten (etwa 20 bis 30 Minuten). Danach verbringt man die Schale mitsamt der Membran in einem größeren Gefäß vollkommen unter destilliertes Wasser; hier bleibt sie etwa eine Stunde. Das destillierte Wasser wird dabei

mehrmals gewechselt. Die Membran löst sich bald von selbst von der Unterlage ab. Sollte das nicht der Fall sein, so hilft man mit einem geeigneten Instrument vorsichtig ein wenig nach. Gelingt die Ablösung auch dann nicht, so war die Unterlage nicht sauber genug. Zu ihrer Reinigung wäscht man sie zuerst mit Bichromat-Schwefelsäure und nach längerem Spülen schließlich auch noch mit Alkohol ab. Zur Erzielung einer ebenen Unterlage wird von manchen Autoren auch so vorgegangen, daß in ein beliebiges, aber hinreichend großes Gefäß sauberes Quecksilber ausgegossen wird, und auf dieses dann das Alkohol-Äther-Kollodium. Wir haben bei feineren Versuchen mit dieser Methode verhältnismäßig oft schlechte Erfahrungen gemacht, da offenbar die Quecksilberoberfläche im Laboratorium nicht sauber genug erhalten werden kann. Dann kann die eine Membranfläche chemische Körper aufnehmen und nicht mehr eine reine Kollodiumoberfläche besitzen. Die Flasche mit dem Alkohol-Äther-Kollodium muß stets gut verschlossen sein, damit eine Konzentrationsänderung infolge Verdunstung unterbleibt.

Zwecks Beladung mit dem amphoteren Körper — (sei es ein Protein wie Albumin oder eine einfache Aminosäure wie Glykokoll) — bringt man in ein Reagenzglas, das sorgfältig gereinigt wurde, 9 ccm Lösung des amphoteren Körpers und zwei Kollodiumstreifen mit einer Gesamtoberfläche von etwa 16 qcm. Die selbst angefertigte, gewässerte Kollodiummembran wird dabei, auf Filtrierpapier liegend, mit einem Rasiermesser in Streifen von der geeigneten, oben angegebenen Größe geschnitten. Stärkeres Pressen, Angreifen mit dem Finger usw. ist dabei zu vermeiden. Das Glykokoll muß ebenfalls, am besten durch Umkristallisieren[4]), sorgfältig gereinigt sein. Man bereitet sich davon etwa eine gesättigte Lösung (sie ist ungefähr 1-normal). Etwa 18 Stunden bleiben die Streifen in der Lösung. (Eine Stickstoffbestimmung vor dem Einlegen und nach der Entfernung der Kollodiumstreifen bringt uns die Menge des adsorbierten Stoffes zur Kenntnis.) Die mit dem amphoteren Körper beladenen Membranstücke werden selbstverständlich wieder auf das sorgfältigste mit destilliertem Wasser gewaschen. Sie sind nunmehr für den Silbernachweis verwendbar. Hierbei geht man so vor, daß man ein Stück-

[4]) Siehe hierzu G. Ettisch u. O. Einstein, Naturwissenschaften, 1931, S. 507.

chen von ungefähr 0,5 qcm Größe der Glykokoll-Kollodium- (oder Protein-Kollodium-) Membran in 10 ccm sehr verdünnter Silberlösung ($AgNO_3$) legt und 24 Stunden oder noch länger darin läßt. Nach erfolgter Adsorption spült man die Membran mit destilliertem Wasser ab, gibt in ein Reagenzglas etwa 0,5 ccm Wasser und setzt jetzt einen Tropfen von gesättigter alkoholischer Lösung des Silberreagens und einen Tropfen von verdünnter Salpetersäure dazu. Bei Gegenwart kleinster Silbermengen färbt sich die Membran schwach rot, ohne Silber nur gelb. Die gelbe Eigenfarbe des Silbereagens kann man noch mit Aceton zum größten Teile wieder auswaschen. Damit verschärft man noch den Unterschied zwischen dem Kontrollversuch und der Probe mit Silbersalz.

Auf diese Weise ist es möglich, noch 0,25 γ Silber in 10 ccm Probevolumen nachzuweisen. Das entspricht der Verdünnung von 1 : 40,000.000. Bisher gelang dieser Nachweis noch in einer Verdünnung 1 : 5,000.000. Die Durchführung setzt aber eine neutral reagierende Lösung voraus. In schwach saurer Lösung sind die Ergebnisse ungenau und unsicher. Wir haben auch versucht, mit Zellulose-Glykokoll-Membranen[5]) zu arbeiten. Die Glykokolladsorption ist aber hier anscheinend nicht so stark und dadurch ist auch der analytische Nachweis weniger deutlich als bei Kollodiummembranen.

Wie empfindlich dieser Silbernachweis ist, geht aus folgendem Versuche hervor: Wir haben 1 g Silberpulver in einem 500-ccm-Meßkolben mit destilliertem Wasser geschüttelt und vier Tage stehengelassen. Nach dieser Zeit war es möglich, Silber in 10 ccm der Flüssigkeit nach 48stündigem Verweilen in dem Silberreagens nachzuweisen.

In Salzgemischen kann man nicht eine so niedrige Erfassungsgrenze erzielen wie in reinen Silberlösungen. Große Mengen von Blei, Tellur, Wismut, Kupfer usw. stören bei der Durchführung des Silbernachweises. In ziemlich verdünnten Blei-, Tellur- und Kupferlösungen gelingt der Silbernachweis, er ist jedoch ohne praktische Bedeutung. Die üblichen anorganischen Salze, wie Na_2SO_4, KNO_3 $(NH_4)_2SO_4$, stören in kleineren Konzentrationen

[5]) Die Zellulosemembranen hierzu wurden nach einem Verfahren von G. Ettisch und E. Hellriegel hergestellt, das demnächst zur Veröffentlichung gelangt.

nicht. Somit ist es möglich, den Nachweis auch in Gegenwart von organischen Salzen, wie Kaliumbenzoat, Natriumazetat usw., durchzuführen.

Es mag schließlich noch bemerkt werden, daß, als Tüpfelreaktion ausgeführt, der Reaktion eine noch höhere Empfindlichkeit würde verliehen werden können.

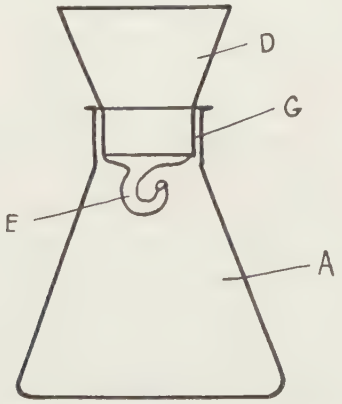
Ein Gefäß für das Abdampfen im Vakuum.

Von **Adolf Režek.**

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Zagreb.

(Eingelangt am 9. Mai 1931.)

Im Verlaufe einer Arbeit mit sehr kleinen Substanzmengen, welche sich an der Luft leicht veränderten, verlor ich beim Eindampfen im Vakuum in verschiedenen Gefäßen, die ich verwendete, infolge des Siedeverzuges, der bei Beginn der Kristallisation besonders heftig ist, sehr oft viel Substanz. Zur Behebung dieses Übelstandes konstruierte ich nachstehend abgebildeten Apparat, welcher mir gute Dienste leistete.



Es sei bemerkt, daß bei Verwendung des Apparats ein Siedeverzug beim Abdunsten im Vakuum zwar nicht beseitigt wird, doch läßt sich ein Substanzverlust vermeiden, da weggeschleuderte Teile im Gefäß verbleiben und aus diesem durch Filtration oder auf andere Art entnommen werden können. Das Gefäß mit der abzudampfenden Flüssigkeit kann man auch vor dem Evakuieren er-

wärmen oder die Verdampfung direkt am Wasserbade vornehmen; schließlich ist es auch bei Flüssigkeiten und Lösungen, die leicht schäumen, verwendbar.

Der Apparat besteht aus Jenaer Glas. Der untere Teil A ist ein Erlenmeyer-Kolben, dessen Hals G fein geschliffen ist. In den Hals paßt der obere Teil des Gefäßes D, welcher Trichterform besitzt; den unteren Teil bildet ein geschliffener Glasstöpsel, der gut in den Hals des Kolbens paßt. Der untere Teil des Stöpsels ist zu einer dünnen, gegen oben gebogenen Röhre (E) ausgezogen. Das Gefäß ist etwa 14 cm hoch und etwa 45 g schwer. Wenn man die Dimensionen so wählt, daß das Gesamtgewicht etwa 15 g ist, so kann man es auch auf der Mikrowaage wägen.

Die Verdampfung im Vakuum geschieht so, daß man die Lösung in das Kölbchen bringt, mit dem Aufsatz gut verschließt, in einen passenden Exsikkator stellt und evakuiert.

Das Gefäß ist für verschiedene Lösungsmittel wie auch für verschiedene Substanzen ausprobiert. Es ist auch für das quantitative Arbeiten mit kleinen Substanzmengen geeignet.

Eine neue Mikrobestimmung des Kohlenstoffs durch nasse Verbrennung. (II. Mitteilung.)

Verbrennung von Flüssigkeiten.

Von **Erwin Schadendorff** und **Michael Karl Zacherl.**

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Graz.

(Eingelangt am 24. Juli 1931.)

Lieb und Krainick[1]) haben in der I. Mitteilung schon darauf hingewiesen, daß der Verbrennung kohlenstoffhaltiger Körper mit Silberbichromat-Kaliumbichromat-Schwefelsäure besonders auf biologischem Gebiet große Bedeutung zukommt. Da es sich hierbei in der Regel um Flüssigkeiten oder viskose Körper handelt, ergab sich die Notwendigkeit, die für feste Substanzen ausgearbeitete Methode in ihrer Anwendbarkeit weiter auszubauen.

Boivin hat in seiner Arbeit „Le microdosage du carbone par oxydation sulfochromique"[2]) die Versuchsergebnisse früherer Forscher mit eigenen Verbesserungen bei der Nicloux'schen Methode behandelt. Er unterscheidet prinzipiell bei den in Betracht kommenden Flüssigkeiten chemisch einheitliche Körper einerseits, anderseits Flüssigkeiten mit mehr oder weniger großem Wassergehalt. Dieser Einteilung entsprechend bedient er sich verschiedener Methoden der Einwaage. Chemisch wohl definierte Flüssigkeiten wägt er ähnlich der Pregl'schen Einwaage in kleinen Glaskapillaren ein. Wie Abb. 1 zeigt, werden diese in das Reaktionsgefäß

[1]) Mikrochemie, **IX**, 367 (1931).

[2]) Bul. Soc. Chim. biol., **XI**, 1269 (1929).

eingeführt und nach Zugabe der Säure durch einen Stempel zerdrückt.

Da nach Angabe von Nicloux und Boivin (l. c.) bei Anwesenheit auch nur geringer Wassermengen die vollständige Zersetzung nicht mehr gewährleistet ist, suchten sie die Lösungen vor der

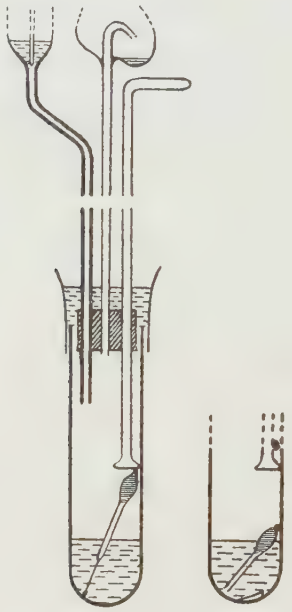


Abb. 1. Apparat nach Nicloux und Boivin.

Verbrennung weitestgehend zu entwässern. Das wurde durch Zusatz von wasserfreiem Natriumsulfat und nachheriges Evakuieren erreicht und dadurch auch gleichzeitig eine äußerst feine Verteilung der zu verbrennenden Substanz hergestellt. Um leicht oxydable Körper vor zu heftiger Reaktion zu schützen, wurde der trockene Rückstand mit einer Schichte von Natriumsulfat bedeckt.

Diese Angaben unverändert als Unterlage für unsere Versuche zu benützen, erschien nicht ratsam, da auf Beibehaltung des in der Apparatur von Lieb und Krainick gegebenen kohlensäurefreien geschlossenen Systems größtes Gewicht gelegt werden mußte. Von der so vielfach bewährten Methode der Einwaage von Flüssigkeiten in Kapillaren wollten wir zumal bei leichtflüchtigen Stoffen nicht

abgehen. Die Möglichkeit der Zertrümmerung durch einen Stempel war ohne durchgreifende Änderung der Oxydationsanordnung nicht möglich. Es gelang schließlich, eine Anordnung zu finden, die den an sie gestellten Anforderungen vollkommen entspricht, ohne daß an der bisherigen Konstruktion irgendwelche wesentliche Änderungen getroffen werden mußten.

Wie bereits in der ersten Mitteilung erwähnt, ist am Ende des Gaseinleitungsrohres (GR) ein Glasdorn (D) seitlich angebracht,

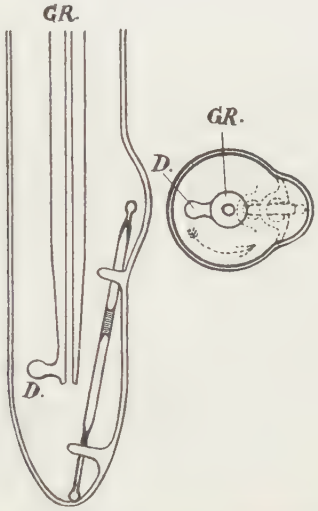


Abb. 2. Apparatur zur Verbrennung von Flüssigkeiten[3]) (natürl. Größe).

der dazu dient, die Glaskapillare zu zertrümmern. Das Oxydationskölbchen ist entgegen dem für feste Körper nicht kugelförmig ausgeblasen, sondern zu einer Spitze verjüngt. An der Innenwand des Kölbchens sind übereinander, im Abstand von etwa 25 mm, zwei Glasschlingen angebracht, in die die geschlossene Kapillare eingeführt wird. Eine kleine Ausbuchtung oberhalb der Schlingen ermöglicht Längenunterschiede der Kapillaren. Es ist also ohne besondere Geschicklichkeit möglich, diese in passender Länge herzustellen. Das Verhältnis des Oxydationskölbchens zum Gaseinleitungsrohr ist aus der Abb. 2 ohne weiteres ersichtlich.

[3]) Die Apparatur wird von der Firma Paul Haack, Wien, IX., Garelligasse 4, geliefert (DRGM. angemeldet).

Da bei der Verbrennungstemperatur von 140° C die Zersetzung und Gasentwicklung des Kaliumchlorats oder ähnlicher Körper nicht in wirksamer Weise stattfinden und wir daher die Körper ohne irgendwelche Zugabe in die Kapillaren bringen, kommt diese Art der Einwaage naturgemäß nur für solche Körper in Frage, deren Dampftension bei 140° so groß ist, daß allein durch diese eine innige Vermischung mit der Oxydationssäure herbeigeführt wird. Das so begrenzte Gebiet ist jedoch so groß, daß damit sämtliche Körper erfaßt sind, die wegen ihrer Flüchtigkeit in verschlossenen Gefäßen eingewogen werden müssen. Flüssigkeiten mit einem Siedepunkt von etwa 200°, wie Oktylalkohol oder Nitrobenzol, lassen sich, wie die Tabelle der Analysenergebnisse zeigt, ohne Schwierigkeit noch auf diese Weise verbrennen. Körper mit höheren Siedepunkten lassen sich ohne Verlust in einem ausgeglühten Porzellanschiffchen, wie es bei der PREGL'schen Elementaranalyse Verwendung findet, einwägen. Das gewogene Schiffchen wird in das Oxydationskölbchen eingebracht und die Substanz so der Verbrennung zugeführt.

Ausführung der Bestimmung.

Bei Bestimmung des Kohlenstoffgehaltes von Flüssigkeiten, deren Siedepunkt 200° nicht überschreitet, verfährt man folgendermaßen:

Durch Ausziehen alter, gereinigter Reagensgläser stellt man sich nach den Angaben PREGL's[4]) Kapillaren her, deren innerer Durchmesser etwa 1 mm beträgt. Sofern man es vorzieht, sie beim Glasbläser zu beziehen, ist es geboten, sie einer gründlichen Reinigung mit heißer Schwefelsäure-Chromsäure zu unterziehen. Die weitere Handhabung gestaltet sich naturgemäß bedeutend leichter, wenn die Kapillaren aus dickerem Glas gezogen sind. Man läßt das Glas zu einem Tropfen zusammenschmelzen und zieht nun außerhalb der Flamme zu einem möglichst dicken Stiel aus, der in einer Länge von 10 mm abgeschmolzen wird. Das andere Ende des Röhrchens wird etwa 30 mm vom verschlossenen Ende zu einer haarfeinen, ganz kurzen Kapillare ausgezogen. Nach gründlicher Reinigung mit kleinen Lederläppchen wird gewogen. Hernach wer-

[4]) PREGL, Quantitative organische Mikroanalyse, III. Aufl., S. 77.

den durch vorsichtiges Erwärmen und Eintauchen der Kapillare in die Analysenflüssigkeit 2 bis 3 mg Substanz soweit eingesaugt, bis diese ungefähr in die Mitte des Röhrchens eingeflossen ist. Nachdem die in der feinen Kapillare haftende Substanz durch rasches Durchziehen durch die Flamme des Mikrobrenners entfernt ist, wird das Röhrchen zugeschmolzen. Dessen endgültige Form und Länge ist aus untenstehender Abb. 3 zu ersehen.

Abb. 3. Einwaagekapillare für Flüssigkeiten (natürl. Größe).

Nach abermaligem Reinigen und Wägen wird die Kapillare in der Mitte des Flüssigkeitstropfens mit einem Glasmesser vorsichtig angeritzt und sofort in die Glasschlingen des Oxydationskölbchens eingebracht.

Für den weiteren Hergang der Analyse verweisen wir auf die erste Mitteilung (l. c.). Nach Einlassen der Oxydationssäure und Vorlegen der Barytlauge wird durch Drehen des Oxydationskölbchens die Kapillare zerbrochen und nun das Ölbad rasch angeheizt. Das in der Kapillare eingeschlossene Gas dehnt sich aus und treibt die Substanz völlig in die Oxydationsflüssigkeit.

Analysenergebnisse:

Substanz	Siedepunkt	Einwaage	% C ber.	% C gef.	Δ
Äther	37	2,895	64,79	64,56	— 0,23
Aceton	56	2,763	62,04	62,13	+ 0,09
Tetrachlorkohlenstoff	77	4,984	8,83	9,06	+ 0,23
Isopropylalkohol . .	83	1,727	59,94	60,16	+ 0,22
Oxalsaures Äthyl . .	186	4,568	49,29	49,48	+ 0,19
Oktylalkohol . . .	195	3,264	73,77	73,80	+ 0,03
Oktylalkohol . . .	195	2,388	73,77	73,98	+ 0,21
Nitrobenzol	205	2,682	58,51	58,69	+ 0,18
Ölsäure	264/50	2,867	76,52	76,67	+ 0,15

Den Kohlenstoffgehalt in geringen Mengen von Metallen und Legierungen zu bestimmen, ist uns bisher nicht in befriedigender Weise gelungen. Wie aus unseren

Analysenergebnissen hervorgeht, ist nicht der Mangel an Einheitlichkeit des Materials die Ursache für die auftretenden Differenzen.

Wir haben an verschiedenen Stahl- und Roheisensorten, die uns in liebenswürdiger Weise von Gebr. Böhler & Co., Gußstahlfabrik Kapfenberg, zur Verfügung gestellt wurden, Bestimmungen ausgeführt und dabei durchweg untereinander übereinstimmende Resultate erhalten. Es hatte auf das Versuchsergebnis keinen Einfluß, ob wir zur Verbrennung unsere Oxydationssäure unverdünnt oder verdünnt verwendeten oder ob wir ein Säuregemisch anwandten, das von CORLEIS angegeben wurde[5]) und in der Makrobestimmung mit Erfolg Anwendung findet. Dabei ist hervorzuheben, daß die sowohl positiven wie negativen Differenzen darauf hindeuten, daß die Schwierigkeiten nicht in der Zusammensetzung des Oxydationsgemisches gelegen sind. Auch die verschiedensten Verbrennungstemperaturen ergaben bei den einzelnen Materialproben die gleichen untereinander übereinstimmenden Resultate. Wir behalten uns vor, durch weitere Versuche zur Klärung dieser Frage beizutragen.

Es erscheint uns schon aus Ersparungsgründen von Interesse mitteilen zu können, daß wir die schon verwendete Silberbichromat-Kaliumbichromat-Schwefelsäure durch abermaliges Erhitzen im Sauerstoffstrom auf 120° durch 2 bis 3 Stunden wieder gebrauchsfähig gewinnen konnten. Es ist allerdings zweckmäßig, für eine Bestimmung dann 5 ccm dieser regenerierten Säure zu verwenden. Ihre durchaus befriedigende Wirksamkeit ist aus den angefügten Analysenergebnissen ersichtlich:

Substanz	Einwaage	% C ber.	% C gef.	△
Acetylsalicylsäure . .	2,684	59,98	59,91	+ 0,07
Perylen	2,884	95,26	95,11	— 0,15

Für die staubsichere Aufbewahrung der Oxydationssäure hat es sich in jüngster Zeit als praktisch erwiesen, den Glasstöpsel der Flasche, der durch auskristallisierendes Chromtrioxyd leicht festwächst, durch eine Schliffkappe zu ersetzen.

Anwendung auf biologisches Material.

Bei Anwendung dieser Methode auf biologisches Material war vor allem die Frage zu klären, inwieweit der Wassergehalt des Untersuchungsmaterials die Resultate störend beeinflußt. Zu diesem Zweck haben wir uns verdünnte Lösungen von Harnstoff und Hippursäure hergestellt. In Übereinstimmung mit den An-

[5]) BAUER-DEISS, Probenahme und Analyse von Eisen und Stahl, S. 104 ff.

gaben von Nicloux und Boivin (l. c.) konnten auch wir feststellen, daß sich Harnstoff bei Anwesenheit von größeren Wassermengen hartnäckig seiner Verbrennung widersetzt.

Hippursäurelösung:

22,972 mg Hippursäure in 10 ccm Wasser:	ber. 138,5 mg % C
Versuch I: 0,5 ccm Lösung	gef. 141,1 mg % C
Versuch II: 0,5 ccm Lösung	gef. 135,0 mg % C

Harnstofflösung:

12,962 mg Harnstoff in 3 ccm Wasser:	ber. 85,3 mg % C
Versuch III: 0,5 ccm Lösung	gef. 79,9 mg % C
Versuch IV: 0,5 ccm Lösung	gef. 77,0 mg % C
Versuch V: 0,5 ccm Lösung	gef. 76,8 mg % C
Versuch VI: 0,5 ccm Lösung	gef. 86,6 mg % C

Wir haben die Lösungen mit einer Präzisionspipette, wie sie von Pregl (l. c.) zur Dichtebestimmung benützt wird, direkt in das Oxydationskölbchen eingefüllt.

Die Hippursäure läßt sich ohne weiteres in dieser Verdünnung quantitativ verbrennen.

Der Harnstoff wird wohl, wie die Versuche III bis V zeigen, zum größten Teil rasch verbrannt, läßt jedoch eine quantitative Bestimmung bei dieser Verdünnung nicht mehr zu.

Gaben wir allerdings analog der Vorschrift von Boivin wasserfreies Natriumsulfat zu der abgemessenen Harnstofflösung und ließen diese im Oxydationsgefäß über Nacht im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure stehen, so erhielten wir laut Versuch VI ein durchaus befriedigendes Resultat.

Um die Verbrennbarkeit des Harnstoffes bei längerer Versuchsdauer zu untersuchen, haben wir folgenden Versuch angestellt:

Um jeglichen Pipettenfehler auszuschließen und so genauen Einblick in die Reaktion zu gewinnen, haben wir den Harnstoff in Substanz eingewogen und mit der Präzisionspipette 0,17 ccm Wasser zugefügt. Wie man aus den folgenden Daten ersieht, ist der Harnstoff trotz bedeutend längerer Oxydationsdauer unter diesen Bedingungen nicht quantitativ verbrennbar.

Versuch VII:

9,444 mg Harnstoff + 0,17 ccm Wasser:	ber. 19,97 %	C
nach Durchleiten von 150 ccm Sauerstoff	gef. 17,32 %	C
nach Durchleiten von 200 ccm Sauerstoff	gef. 18,90 %	C
nach Durchleiten von 250 ccm Sauerstoff	gef. 19,16 %	C
nach Durchleiten von 300 ccm Sauerstoff	gef. 19,26 %	C

Wir haben weiters, um den Verbrennungsbedingungen, wie sie im Harn vorliegen, möglichst nahe zu kommen, den folgenden Versuch ausgeführt:

Die Mengenverhältnisse der gelösten Körper sind denen des physiologischen Harns angeglichen. Überraschenderweise ergaben die drei ausgeführten Bestimmungen des Kohlenstoffgehaltes auch o h n e Zusatz von Natriumsulfat, allerdings nach Durchleiten von 150 ccm Sauerstoff, Werte, die maximal um 3‰ von der Theorie abweichen.

Versuchsreihe VIII:

205,22 mg Harnstoff, 7,45 mg Harnsäure, 7,53 mg Hippursäure,		
9,34 mg Kreatinin in 10 ccm Wasser:	ber. 521,4 mg %	C
1. Bestimmung: 0,17 ccm Lösung	gef. 522,3 mg %	C
2. Bestimmung: 0,17 ccm Lösung	gef. 521,2 mg %	C
3. Bestimmung: 0,17 ccm Lösung	gef. 522,9 mg %	C

Nach diesen orientierenden Vorversuchen konnten wir darangehen, Bestimmungen im H a r n u n d B l u t s e r u m auszuführen.

Die schwere Verbrennbarkeit des Harnstoffes in wäßriger Lösung bereitet in diesem Fall nahezu keine Schwierigkeit. In Übereinstimmung mit der vorhergehenden Versuchsreihe VIII bleibt es für das Resultat ohne Einfluß, ob der Harn als solcher zur Verbrennung gelangt, oder ob er zuvor mit Natriumsulfat vermengt im Vakuum über Schwefelsäure zur Trockene eingeengt wird (Versuch XI und XII). Selbstverständlich haben wir das dabei verwendete Natriumsulfat zuvor auf seinen Kohlenstoffgehalt geprüft und als einwandfrei befunden. Allerdings hat es sich als notwendig erwiesen, bei Kohlenstoffbestimmungen im Harn durchwegs 150 ccm Sauerstoff durchzuleiten. Da gewisse Stoffe des Harns sofort mit

dem Oxydationsgemisch heftig reagieren, ist es zur quantitativen Absorption unerläßlich, schon vor dem Einlassen der Oxydationssäure so viel Barytlauge vorzulegen, daß der Gasverteiler davon bedeckt ist.

Versuch IX: 0,17 ccm Harn	gef. 1043 mg % C
Versuch X: 0,17 ccm Harn	gef. 1048 mg % C
Versuch XI: 0,17 ccm Harn	gef. 1049 mg % C
Versuch XII: 0,17 ccm Harn	gef. 1050 mg % C

Es sei noch beigefügt, daß sich diese Resultate in guter Übereinstimmung mit den von Boivin (l. c.) angeführten Werten befinden.

Für die Kohlenstoffbestimmungen in menschlichem Blutserum haben wir uns eine zehnfach verdünnte wässerige Lösung von physiologischem Serum hergestellt und davon je 0,17 ccm zur Analyse verwendet. Die dabei erhaltenen Resultate zeigen untereinander gute Übereinstimmung. Gigon und Brauch[6]) haben mittels der Elementaranalyse nach Pregl Kohlenstoffbestimmungen im Serum von Kaninchen ausgeführt und dabei Werte erhalten, die durchschnittlich 0,8% tiefer liegen als die von uns erhaltenen. Es erscheint uns jedoch als naheliegend, daß hierbei die Bildung von Alkalikarbonaten eine nicht zu unterschätzende Rolle gespielt hat.

Da unseres Wissens für den Kohlenstoffgehalt im menschlichen Blutserum bisher in der Literatur keine Vergleichswerte aus trokkener und nasser Verbrennung vorliegen, haben wir nach den Angaben von Gigon und Brauch (l. c.) menschliches Serum analysiert und dabei Werte erhalten, die um 0,14% tiefer sind als die nach unserer Methode erhaltenen — eine Differenz, welche angesichts der hohen Einwaage unserer oben ausgesprochenen Vermutung recht zu geben scheint.

a) Verbrennung nach Pregl:

8,162 mg Serum ergaben 1,32 mg CO_2	gef. 4,411% C
6,346 mg Serum ergaben 1,02 mg CO_2	gef. 4,384% C

[6]) Gigon und Brauch, Helvet. chim. Acta, **VIII**, 97 (1925).

b) Verbrennung nach Lieb-Krainick:

mit Zusatz von Natriumsulfat: 4659 mg % C gef. 4,559% C
ohne Zusatz von Natriumsulfat: 4671 mg % C gef. 4,571% C

Auf Grund der vorliegenden Ausführungen halten wir die Anwendbarkeit der Kohlenstoffbestimmung auf nassem Wege nach Lieb und Krainick auch auf biologischem Gebiet für gegeben. Versuche zu deren Auswertung sind an unserem Institut in Gang.

Mikroanalytische Methoden für das Industrielaboratorium. II.[1])

Eine Abänderung der PREGL'schen Mikro-C-, H-Bestimmung bei ausschließlicher Verwendung von Sauerstoff.

Von **Fr. Vetter.**

(Eingelangt am 16. Juli 1931.)

Die Methoden zur Mikro-C-, H-Bestimmung in organischen Substanzen, die in den letzten Jahren als „Vereinfachungen" der PREGL'schen Originalmethode aufgekommen sind, bedeuten nicht nur in bezug auf die meist erforderliche größere Substanzmenge (Halbmikroverfahren) größeren Aufwand an Material und Zeit, sondern ganz besonders in bezug auf Verläßlichkeit und Genauigkeit einen Rückschritt. Ob tatsächlich dabei Vereinfachungen herausgekommen sind, ist vielfach eine Streitfrage und bleibt oft dem Geschmack des Analytikers überlassen. So ist das Weglassen der an sich doch einfachen Mariotte'schen Flasche nach meiner Ansicht keine Vereinfachung, sondern eher eine Erschwerung der Arbeitsweise, weil damit auf einen einfachen, selbsttätigen Kontrollapparat verzichtet wird. Bei der im folgenden beschriebenen Abänderung der PREGL'schen Methode sind denn auch weder an der Verbrennungs-, noch an der Absorptionsapparatur das Wesen dieser Methode treffende Vereinfachungen angebracht.

Die Methode nach PREGL erfordert bekanntlich neben reinem Sauerstoff noch reine, von organischen und absorbierbaren anorganischen Stoffen völlig freie Luft. Da nun erfahrungsgemäß die Außenluft von Fabriklaboratorien diese schädlichen Stoffe in sol-

[1]) I. Mitteilung: „EMICH-Festschrift" dieser Zeitschrift, S. 280 (1930).

chen Mengen enthalten kann, daß bei der Mikro-C-, H-Bestimmung bereits stark ins Gewicht fallende Fehler entstehen, wurde versucht, die Verbrennung und nachfolgende Spülung mit Sauerstoff allein vorzunehmen und die Absorptionsröhrchen im sauerstoffgefüllten Zustande zur Wägung zu bringen. Das Gelingen dieses Versuches setzt lediglich voraus, daß die Diffusion des Sauerstoffs aus den PREGL'schen Wägeröhrchen so langsam erfolgt, daß die Röhrchen während der Dauer der Wägung genügend gewichtskonstant zu erhalten sind. Es war vorauszusehen, daß der Austausch des Sauerstoffs mit der umgebenden Luft bei der bewährten Konstruktion der PREGL-Röhrchen nur sehr langsam vor sich gehen wird. Allerdings ist den kapillaren Verjüngungen in den Ansatzröhrchen sowie der Durchtrittslücke des Hohlstöpsels besonderes Augenmerk zu widmen. Ihre lichte Weite darf bei ersteren nur 0,1 bis höchstens 0,2 mm, die der Durchtrittslücke 0,2 bis maximal 0,3 mm betragen. Das sind die Maße, wie sie PREGL angibt. Seitens der Herstellerfirmen wird ihnen oft zu wenig Beachtung geschenkt; eine Kontrolle mit Hilfe der Lupe ist daher notwendig. Die Bestimmung der Geschwindigkeit der Gewichtsabnahme der Röhrchen durch Diffusion bestätigt die Richtigkeit der vorerwähnten Annahme. Es findet zwar natürlicherweise eine langsame Diffusion und damit eine Abnahme des Gewichtes statt; da aber das Gewicht der Kohlensäure und des Wassers als Differenz zweier unter genau gleichen Umständen vorgenommenen Wägungen erscheint, so findet man ebenso gute Werte wie bei der Wägung der Röhrchen im luftgefüllten Zustande. So lieferte z. B. die Verbrennung von reinster Salicylsäure folgende Werte:

4,382 mg Substanz ergaben 1,62 mg H_2O und 9,77 mg CO_2.

	H	C
Gefunden	4,13%	60,81%
Berechnet	4,38%	60,85%
Differenz	— 0,25%	— 0,04%

Die Ausführung der Analyse muß gegenüber der PREGL'schen Methode eine zweckentsprechende Abänderung erfahren, ebenso die Apparatur, die man am besten wie folgt anordnet:

Der direkt aus der Bombe entnommene Sauerstoff wird zum PREGL'schen Druckregler durch einen kurzen, gealterten Gummischlauch geführt. Von hier leitet man den Sauerstoff mittels eines möglichst kurzen Verbindungsschlauches durch einen mit etwas Vaselin gefetteten Glashahn und weiter zum Blasenzähler mit Absorptionsröhrchen. Das Vaselin muß von flüchtigen Bestandteilen völlig frei sein. Die Verbindung mit dem Verbrennungsrohr geschieht mit der Kapillare oder durch einen seitlich, schräg an diesem angebrachten Ansatz mit einem Schlauchstückchen so, daß Glas an Glas stößt.

Die Ausführung der Analyse wird folgendermaßen abgeändert: Nachdem man den Verbrennungsofen und die Granate unter Durchleiten von Sauerstoff längere Zeit vor Beginn der Analyse angeheizt hat, um die Feuchtigkeit im Rohr und im Bleisuperoxyd zu entfernen, schließt man die PREGL'schen Absorptionsröhrchen an, um sie mit Sauerstoff zu füllen. Nach 10 Minuten werden sie abgenommen und wie gewöhnlich nach PREGL mit feuchtem Flanell und nicht zu scharf trockenem Rehleder behandelt und nach 10 Minuten gewogen. Nun beginnt man mit der Analyse genau nach PREGL, verbrennt also 3 bis höchstens 5 mg Substanz in 10 Minuten gleichmäßig durch langsames Vorschieben des Drahtnetzröllchens. Ist die Verbrennung beendet, so hat man lediglich noch 10 Minuten lang Sauerstoff durchzuleiten, wobei man den vorderen Teil der Verbrennungsröhre nochmals rasch durchglüht. Gleichzeitig mißt man im Meßzylinder die aus der Mariotte'schen Flasche ablaufende Wassermenge zur Kontrolle. Es sollen in den 10 Minuten 40 bis höchstens 50 ccm Wasser abfließen. Ist dies geschehen, so nimmt man die Röhrchen ab, reinigt wie vorher und wägt wieder genau nach 10 Minuten. Dann schließt man sie sofort wieder an das Verbrennungsrohr an und schreitet zur Analyse der nächsten Substanz.

Durch das Wegfallen der Nachspülung des Verbrennungsrohres und der Absorptionsröhrchen hinter und vor diesem mit Luft könnte die Zeitdauer der Nachverbrennung und der Überführung der Kohlensäure und des Wassers leicht auf wenige Minuten herabgesetzt werden. Daß dies trotzdem nicht möglich ist, liegt daran, daß das Verbrennungswasser, seinem Partialdruck entsprechend, vom Bleisuperoxyd vorübergehend aufgenommen und nur

langsam wieder an den heißen, trockenen Gasstrom abgegeben wird. Ähnlich verhält sich das Gummiverbindungsstück vom Schnabel zum Chlorkalziumröhrchen. Aus diesen Gründen ist bei wasserstoffreichen Substanzen ein längeres Nachspülen erforderlich.

Die Vorteile dieser Modifikation der PREGL'schen Methode liegen auf der Hand. Die beiden Gasometer für Sauerstoff und Luft kommen in Wegfall und werden durch die Sauerstoffbombe ersetzt; weiter kommt nur ein Druckregler zur Anwendung, der Dreiwegehahn fällt ebenfalls weg. Das Wichtigste der Neuerung ist, daß man sich von der nach PREGL unbedingt erforderlichen reinen Luft, die im Fabrikbetriebe nicht zur Verfügung steht, unabhängig macht. Obendrein läßt sich gerade durch Ausschaltung der Luftspülung die Gesamtdauer der in Serie gemachten Analysen auf 40 Minuten abkürzen: 10 Minuten zur Verbrennung der Substanz, 10 Minuten zum Durchspülen des Rohres zum Zwecke der vollständigen Überführung der gebildeten Kohlensäure und des Wassers in die Absorptionsröhrchen, 5 Minuten zur Abnahme und Behandlung dieser, 10 Minuten lang liegenlassen und 5 Minuten zum Wägen, also insgesamt 40 Minuten. Betont muß noch werden, daß die Verbindungsschläuche für die Absorptionsröhren unbedingt nach PREGL behandelt sein müssen, da sonst Verbrennungswasser zu lange in diesen zurückgehalten wird.

Schließlich seien noch einige praktische Winke zur Ausführung der Mikro-C-, H-Bestimmung in Erinnerung gebracht:

1. Die Einwaagen dürfen nicht mehr als höchstens 5 mg betragen, da die Größenverhältnisse der Verbrennungs- und Absorptionsröhren und ihre Füllung sowie die Geschwindigkeit des Gasstromes im System für 3 bis 4 mg Substanz zugeschnitten sind.

2. Man verwendet zum langsamen und gleichmäßigen Verbrennen stets das Drahtnetzröllchen; nur so ist eine gute Verbrennung gewährleistet. Das „Röllchen" ist bei etwa verwendeten Quarzröhren[2]) gerade so notwendig und dient nicht etwa dazu, um das Springen des Glases hintanzuhalten, sondern, um die Wärme langsam zum Schiffchen vorzuleiten.

3. Die Verbrennung ist so zu leiten, daß möglichst kein Wasser

[2]) Diese sind übrigens nicht geeignet für C-, H-Bestimmung.

am Ende des Rohres sich kondensiert, da sonst leicht etwas Wasser in die Ritzen zwischen Schnabel, Chlorkalziumröhrchen und dem Verbindungsstück eindringt und daraus nur schwer überzuführen ist.

4. Das Kautschukverbindungsstück zwischen Schnabel und Chlorkalziumröhrchen lasse man vor Beginn der Verbrennungen und zwischen denselben auf dem warmen Schnabelende, sonst fallen die Wasserstoffwerte wegen der Hygroskopizität des Kautschuks meist unrichtig aus.

Zusammenfassung.

Es wird eine besonders für das Fabriklaboratorium zweckmäßige Abänderung der PREGL'schen Originalmethode zur Mikro-C-, H-Bestimmung in Substanzmengen von 3 bis 4 mg beschrieben. Die Neuerung ersetzt die im Originalverfahren unbedingt notwendige reine Luft, die im Fabrikbetrieb nicht oder nur schwer erhältlich ist, durch Sauerstoff und liefert in der auf 40 Minuten abgekürzten Zeit völlig exakte Werte.

Die Trennung von Casein und Albumin in kleinen Milchmengen.

Von **Alfred Wasitzky.**

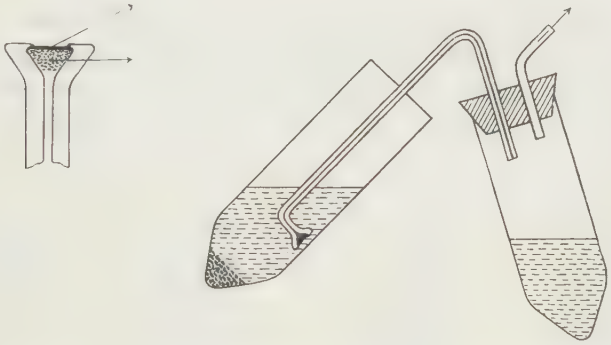
Aus der Reichsanstalt für Mütter- und Säuglingsfürsorge, Wien.

Das hier beschriebene Verfahren ist eine Mikromodifikation der Methode von SCHLOSSMANN[1]), welche darauf beruht, das Casein bei 40° mit gesättigter Alaunlösung abzuscheiden und dann im Filtrat das Albumin mit Tanninlösung zu fällen. Beide Niederschläge werden dann nach KJELDAHL verbrannt. Diese Methode liefert gute Werte und wird auch häufig angewendet. Man kann nun diese Methode vorteilhaft als Zentrifugierverfahren durchführen, wobei es ohne Einbuße an Genauigkeit möglich ist, mit kleinen Material- und Reagenzienmengen Serienanalysen in kurzer Zeit auszuführen. Die Bestimmung gestaltet sich wie folgt: 0,5 bis 1 cm^3 Milch werden in ein zirka 25 cm^3 fassendes Zentrifugenglas mit konisch ausgebildetem Boden gebracht und mit 5 cm^3 destilliertem Wasser verdünnt. Zur Abmessung der Milch verwendet man zweckmäßig eine Nachwaschpipette nach PREGL[2]). Die Zentrifugengläser werden nun in ein Wasserbad von 40° gebracht, und man läßt sie darin zirka fünf Minuten stehen, bis sie diese Temperatur angenommen haben. Dann setzt man jeder Probe 0,1 cm^3 gesättigte Alaunlösung zu, wobei das Casein grobflockig ausfällt und die überstehende Flüssigkeit nahezu klar wird. Wenn dies nicht der Fall ist, so stellt man die Gläschen noch einige Minuten in das Wasserbad und setzt dann noch 0,05 cm^3 Alaunlösung zu und wiederholt den Zusatz von Alaunlösung, wenn es noch notwendig sein sollte. Auf keinen Fall setze man aber beim erstenmal mehr als 0,1 cm^3 Alaunlösung zu. Das Abmessen dieser kleinen Volu-

[1]) Ztschr. physiol. Chem., **22**, 197, 1986, und Milchzeitung, **26**, 169, 1897.

[2]) F. PREGL, Die quantitative anorganische Mikroanalyse, I. Aufl. (1917), S. 104.

mina erspart man sich durch Verwendung einer Tropfpipette. Ich verwende für diesen Zweck eine Pipette mit Kapillarspitze, bei der ein Tropfen 0,05 cm^3 entspricht. Nach kurzem Stehen im Wasserbad setzt sich der Niederschlag vollständig zu Boden und wird dann zentrifugiert. Es ergab sich nun hier die Schwierigkeit, daß die obersten Teile des Sediments sich schon durch Neigen des Zentrifugenglases leicht aufwirbeln lassen. Es kam daher für diesen Zweck ein Absaugen des Filtrats mit einem kapillar ausgezogenen und umgebogenen Röhrchen, wie es bei den klinischen Mikromethoden gebräuchlich ist, oder gar ein bloßes Abgießen nicht in Frage. Nach vielen vergeblichen Versuchen wurde schließlich eine Filtriervorrichtung geschaffen, die sich ausgezeichnet bewährt hat und die auf dem Prinzip des Filterstäbchens[3]) beruht



(siehe Abbildung). Wie aus der Abbildung zu ersehen ist, besteht diese Filtriervorrichtung aus einem doppelt gebogenen, dickwandigen Kapillarrohr, das an einem Ende trichterförmig erweitert ist. Der Trichterrand ist eingezogen. Der so gebildete Hohlraum wird mit grobflockigem Asbest locker gefüllt und dann durch Aufsaugen einer feinflockigen Asbestaufschwemmung gedichtet. Solche Röhrchen lassen sich bei einiger Fertigkeit im Glasblasen leicht selbst herstellen. Dieses Röhrchen wird, wie die Gesamtansicht zeigt, mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstopfen auf das zur Aufnahme des Filtrats bestimmte Zentrifugenrohr gesetzt und die überstehende Flüssigkeit mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Man erhält mit dieser Vorrichtung ein vollständig klares

[3]) F. Emich, Mikrochemisches Praktikum, II. Aufl. (1931), S. 62.

Filtrat. Der Caseinniederschlag wird nun auf diese Weise dreimal mit je 3 cm³ destilliertem Wasser gewaschen, mit einem fein ausgezogenen Glasstäbchen aufgewirbelt und zentrifugiert. Nach dem Waschen löst man den Niederschlag in 1,5 cm³ konzentrierter Schwefelsäure und stellt das Gläschen zur Beschleunigung der Auflösung des Caseins in ein siedendes Wasserbad. Um die auf dem Filter haftenden Caseinreste zu lösen, setzt man die Filtriervorrichtung auf einen Mikrokjeldahlkolben und saugt den Inhalt des Gläschens in den Kolben, spült noch dreimal mit 0,5 cm³ Schwefelsäure nach und verascht dann in der üblichen Weise nach PREGL. Das Filtrat vom Casein wird mit 1 cm³ ALMEN'scher Gerbsäurelösung versetzt. Nach kurzem Stehen scheidet sich das Albumin als voluminöser Niederschlag ab. Dieser haftet nach dem Zentrifugieren fest am Boden des Gefäßes, so daß die oben geschilderte Filtriervorrichtung hier nicht gebraucht wird. Man wäscht den Albuminniederschlag dreimal mit 3 cm³ Wasser und behandelt wie oben. Die nachstehende Tabelle zeigt eine Gegenüberstellung der Werte der Makromethode mit denen der Mikromethode.

Casein		Albumin	
Makro	Mikro	Makro	Mikro
3,08%	3,10%	0,44%	0,48%
3,07%	3,04%	0,48%	0,46%
3,11%	3,12%	0,39%	0,41%
2,98%	2,96%	0,51%	0,52%
2,47%	2,41%	0,36%	0,39%

Wie man aus der Tabelle ersieht, ist die Übereinstimmung eine gute und die Brauchbarkeit der Mikromethode nachgewiesen.

Beiträge zur mikrochemischen Auswertung der Fluoreszenzanalyse.

Von **M. Haitinger, F. Feigl** und **A. Simon.**

Aus dem II. Physikalischen Institut der Universität Wien (Spektroskopische Abteilung).

(Eingelangt am 13. August 1931.)

Nach allen bisherigen Untersuchungen kann es als sicher gelten, daß für die Beobachtung von Fluoreszenzerscheinungen, die von ultraviolettem Licht angeregt werden, schon sehr kleine Stoffmengen genügen. Von verschiedenen Seiten wurde daher die Lumineszenzanalyse für die Zwecke der Reinheitsprüfung empfohlen. So weist O. Wolf[1]) darauf hin, daß Pottasche des Handels, wenn sie mit ultraviolettem Lichte bestrahlt wird, in einer indifferenten Masse einzelne hellblau und rot aufleuchtende Körner zeigt, die er als Kaliumsulfid ansprach.

Auf andere Beispiele der Reinheitsprüfung hat R. Robl[2]) hingewiesen. Zahlenmäßige Daten über die Menge der verunreinigenden Substanzen sind in den genannten Arbeiten nicht enthalten. Doch liegen einige Angaben vor, daß die Stoffmengen, welche die Fluoreszenzerscheinungen hervorrufen, außerordentlich gering sein können. So hat A. F. Kitsching[3]) festgestellt, daß Chinin, Aesculin und Uranin noch in Verdünnungen von $1 : 10^8$, respektive $1 : 10^9$ und $1 : 10^{10}$, durch Fluoreszenz zu erkennen sind.

Sehr bemerkenswert ist auch der Befund von O. Wolf[4]), demzufolge die geringen Mengen von Kalomel, welche beim Fort-

[1]) Chem.-Ztg., **36**, 197, 1912.

[2]) Ztschr. angew. Chem., **39**, 608, 1926.

[3]) Analyst, **47**, 206, 1922.

[4]) l. c.

bewegen eines Quecksilbertropfens auf einer Unterlage von Sublimat entstehen, durch die Rotfluoreszenz entlang der zurückgelegten Bahn des Quecksilberkügelchens erkannt werden können. Wir konnten uns davon überzeugen, daß die dabei entstehenden Spuren von Kalomel auf chemischem Wege nicht nachweisbar sind[5]).

Wenngleich auch Angaben darüber vorliegen, daß Fluoreszenzerscheinungen bereits durch geringe Stoffmengen verdeckt werden können (F. Hein und W. Retter[6]), besteht doch kein Zweifel, daß schon die bei der Quarzlampenanalyse erreichbaren Grenzen in das Gebiet der Mikrochemie fallen. Noch viel weiter kommt man natürlich bei der Verwendung des Mikroskops zur Beobachtung der Fluoreszenz. Als erster erkannte W. Lenz[7]) die Bedeutung der Fluoreszenz in der mikrochemischen Analyse; von diesem Forscher wurde eine große Anzahl typischer Kristallfällungen mit dem im Jahre 1911 von der Firma Optische Werke C. Reichert in Wien hergestellten Fluoreszenzmikroskop untersucht und bei 31 von 87 Proben Lichterscheinungen festgestellt. Dieses Instrument war aber noch recht unvollkommen. Es ist seither einem von uns (H.[8]) gelungen, durch Steigerung der Flächenhelligkeit das Instrument wesentlich zu verbessern, und es erschien daher aussichtsreich, die Untersuchungen von Lenz, bezw. Robl zu wiederholen und zu erweitern. Wir beobachteten im auffallenden Licht, und zwar nicht mit dem l. c. beschriebenen Periskopsystem, sondern mit einem Lieberkühn-Spiegel, der sich für diese Beobachtungsmethode besser eignet. Wir erhielten dadurch ein besser ausgeleuchtetes Gesichtsfeld und einen tiefschwarzen Hintergrund, auf dem sich die Leuchterscheinungen

[5]) F. Emich hat gelegentlich einer Diskussion über Reaktionsempfindlichkeit bei einem Vortrage auf der Hauptversammlung des Vereines Deutscher Chemiker (1931) darauf hingewiesen, daß bei sogenannten Kristallfällungen stets Kristallaggregate einer Erkennungsreaktion zugrunde liegen; es sei aber zu erwarten, daß eine Verfeinerung der Untersuchungstechnik die Möglichkeit einer Erkennung bereits eines Einzelkristalles bieten könne. Wir halten es für möglich, daß die von Wolf beobachtete Erscheinung ein Beispiel für die Richtigkeit der Emichschen Ansicht ist.

[6]) Journ. prakt. Chem., **119**, 2368, 1928.

[7]) Ztschr. analyt. Chem., **54**, 27, 1915.

[8]) Mikrochemie **IX**, 431, 1931.

besser erheben. Das sichtbare Licht war durch ein Schwarzglasfilter ausgeschaltet und der Rest des durchgehenden roten Lichtes durch Kupfervitriollösung vollkommen absorbiert; es konnten daher nur Strahlen zwischen 3000 und 4000 Å. E. fluoreszenzerregend wirken.

Im Hinblick auf die fluoreszenzmikroskopische Betrachtung erschien es uns zunächst notwendig, das Verhalten solcher Verbindungen unter dem Mikroskope festzustellen, welche Ausgangsstoffe bei chemischen Umsetzungen darstellen können, also normale binäre Verbindungen. Eine derartige Prüfung erschien um so notwendiger, als sich zwischen den Angaben von LENZ[9]) und ROBL[9]) Widersprüche finden, welche, wie auch P. W. DANCKWORTT[10]) vermutet, darauf zurückzuführen sein dürften, daß die beiden Autoren unter verschiedenen Versuchsbedingungen, das heißt mit verschiedenen Lichtquellen und auch mikroskopisch, bezw. makroskopisch beobachtet haben. Wir beschränkten uns vorläufig auf die Untersuchung der genannten Präparate in Pulverform und benützten dazu das HAITINGER-REICHERTsche Fluoreszenzmikroskop; wir beobachteten also im Lichte des Eisenbogens. Die Proben wurden teils den eigenen Laboratoriumsbeständen entnommen, teils wurden sie uns in dankenswerter Weise von den einzelnen Firmen zur Verfügung gestellt; sie waren fast durchweg als chemisch rein bezeichnet, doch konnten in vereinzelten Fällen geringe Mengen von Fremdstoffen nachgewiesen werden, welche sich durch Aufleuchten in einer vom Gesamtbilde verschiedenen Farbe zu erkennen geben. Das Fluoreszenzmikroskop gestattet daher den raschen Nachweis von verunreinigenden Stoffen, natürlich nur unter der Voraussetzung, daß diese fluoreszieren.

Von den 207 von uns untersuchten Verbindungen zeigte eine große Anzahl eine mehr oder weniger rötlichviolette Fluoreszenz; dieses sehr schwache und makroskopisch nicht wahrnehmbare Licht kann daher nicht als typisch bezeichnet werden. Es wurde aber bei den einzelnen Präparaten angeführt, da es doch einen merkbaren Unterschied gegenüber jenen Präparaten bedeutet, die

[9]) l. c.

[10]) Lumineszenzanalyse im filtrierten ultravioletten Licht, Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft, 1929.

gar keine Fluoreszenz aufweisen. Es kann vielleicht als Fluoreszenz im langwelligen Ultraviolett gedeutet werden, das nach einer persönlichen Mitteilung des Herrn Prof. Dr. E. Haschek dem Auge in diesem Farbton erscheint.

Deutliche Fluoreszenz zeigten 62 Verbindungen. Dabei erscheint es uns als besonders beachtenswert, daß Metallverbindungen in einer niedrigeren Wertigkeitsstufe (Kupfer, Thallium, Quecksilber) nach unseren Beobachtungen charakteristischere Fluoreszenzfarben zeigen als solche der höheren Wertigkeit, was auch Lenz beim Quecksilber wahrgenommen hat; eigenartig ist das Verhalten von Silberchlorid; vorher vor Licht geschütztes Silberchlorid fluoresziert zunächst nicht; doch tritt bei kurzer Belichtung eine schwache, aber deutlich wahrnehmbare Violettfluoreszenz auf, die zweifellos mit dem raschen, auch makroskopisch sichtbaren photochemischen Zerfall des Silberchlorids zusammenhängt.

Die Resultate unserer Beobachtungen an binären Verbindungen geben wir in der am Schlusse angehängten Tabelle wieder. Weiters wollen wir noch über folgende Einzelbeobachtungen berichten.

Von farbigen Komplexverbindungen untersuchten wir das unlösliche rote, innerkomplexe Nickeldimethylglyoxim und das lösliche rote Eisendipyridylchlorid. Sowohl das feste Dimethylglyoxim als auch die wässerige salzsaure Lösung von $\alpha\alpha'$-Dipyridyl fluoreszierten deutlich, diese Fluoreszenz wird aber von Nickel- und Eisensalzen ausgelöscht.

Der Umstand, daß fast alle von uns untersuchten farbigen Verbindungen (eine Ausnahme machen die Uranylsalze) keine Fluoreszenz zeigen, scheint darauf hinzuweisen, daß bei farbigen Innerkomplexverbindungen keine typischen Fluoreszenzfarben zu erwarten sind. Trifft diese Annahme zu, dann würden bei der Fluoreszenzanalyse gerade jene Verbindungen ausscheiden müssen, die bisher für die Mikrochemie durch ihre Farbe und sonstigen analytisch günstigen Eigenschaften besonders geeignet erschienen. Der Umstand, daß nach unseren Befunden Metallsalze der Ameisen-, Essig-, Oxal-, Bernstein- und Salicylsäure ausgesprochen Fluoreszenzfarben aufweisen, könnte auf den Gedanken bringen, daß möglicherweise geeignete Reagenzien für die mikrochemische Fluoreszenzanalyse gerade bei nichtfarbigen metallorganischen Verbindungen zu suchen sein dürften. Es darf aber nicht übersehen werden,

daß reine anorganische Substanzen nur ausnahmsweise fluoreszieren, während Fluoreszenz bei organischen Substanzen ganz allgemein ist. Es scheint, daß bei Metallsalzen der organischen Säure der wirksame Bestandteil nicht im anorganischen, sondern im organischen Bestandteil zu suchen ist.

Wir untersuchten auch, ob Tüpfelreaktionen auf Filtrierpapier einer Betrachtung unter der Analysenlampe zugänglich wären; zahlreiche diesbezügliche Versuche sind bis jetzt ergebnislos gewesen. Zunächst zeigte sich, daß Filtrierpapier stets eine Eigenfluoreszenz aufweist, die sich zwar durch Bestrahlung unter der Quarzlampe ohne vorgesetzten Filter beseitigen läßt; es treten jedoch beim Aufbringen von Tropfen wässeriger Metallsalzlösung durchweg graublau leuchtende Flecke auf, die eine weitere Differenzierung nicht zulassen.

Die hier mitgeteilten Resultate möchten wir mit aller Reserve wiedergeben, da die Zahl der bis jetzt untersuchten Substanzen doch noch ziemlich klein ist und da fast jede Substanz nur in einer Probe zur Verfügung stand. Es ist daher noch nicht zu übersehen, inwieweit etwa Ausgangsmaterial und Darstellungsgang einen Einfluß auf die Stärke, ja sogar auf den Farbton von Einfluß sein könnten.

Verbindung	Herkunft*)	Fluoreszenz
Aluminiumtrioxyd	Sch. K.	*rosa*
bromid	„	*stark hellblau*
sulfat	„	rotviolett
acetat	„	*stark blau*
Ammonchlorid	H.	rotviolett
sulfat	Sch. K.	„
nitrat	„	„
molybdat	„	„
rhodanid	H.	„
oxalat	„	„
salicylat	Sch. K.	*stark blau*

*) Sch. K. = Schering-Kahlbaum, M. = Merck, H. = E. de Haen.

Verbindung	Herkunft	Fluoreszenz
Antimontrioxyd	M.	rotviolett
trichlorid	„	—
Arsentrioxyd	Sch. K.	rotviolett
trijodid	„	—
trisulfid	„	—
Bariumoxyd	„	rotviolett
chlorid	H.	„
bromid	M.	—
sulfid	„	*stark sandgelb*
sulfat	Sch. K.	rotviolett
thiosulfat	„	—
nitrat	„	rotviolett
phosphat	„	„
formiat	„	*blau* mit violettem Schimmer
acetat	H.	*grün* mit blauem Stich
succinat	Sch. K.	*violett*
salicylat	„	*stark blau*
Berylliumoxyd	M.	violett
carbonat	Sch. K.	„
Bleioxyd	„	—
dioxyd	„	—
chlorid	„	rotviolett
jodid	„	„
carbonat	„	*sandgelb*
„ , basisch	„	*gelb*
sulfat	„	rotviolett
nitrat	H.	„
chromat	Sch. K.	—
acetat	„	*weiß* mit blauem Stich
Borsäure	H.	*bläulichweiß*
Cäsiumsulfat	Sch. K.	*stark hellblau*

Verbindung	Herkunft	Fluoreszenz
Chrom-3-fluorid	Sch. K.	—
-3-chlorid	„	—
Ceronitrat	M.	—
Eisen-2-sulfat	Sch. K.	—
-2-chlorid	„	—
-3-oxyd	„	—
-3-rhodanid	„	—
Kadmiumcarbonat	„	—
sulfat	H.	—
nitrat	Sch. K.	*blau* mit violettem Stich
wolframat	M.	*stark gelb*
Kaliumhydroxyd	Sch. K.	rotviolett
chlorid	„	„
bromid	H.	„
jodid	Sch. K.	„
carbonat	H.	„
bicarbonat	Sch. K.	„
sulfat	„	*blau*
sulfid	M.	*bläulichweiß*
seleniat	H.	*blau* mit violettem Stich
nitrat	„	—
chlorat	Sch. K.	rotviolett
perchlorat	H.	—
bromat	„	rotviolett
jodat	Sch. K.	„
silikat	„	*blau*
pyroantimoniat	„	*hellviolett*
chromat	H.	—
bichromat	Sch. K.	—
permanganat	„	—
cyanid	„	*hellblau*
hydrotartrat	H.	*blau*
natriumtartrat	„	rotviolett
succinat	„	*bläulichweiß*

Verbindung	Herkunft	Fluoreszenz
Kalziumoxyd	M.	*blau*
chlorid	H.	—
jodid	M.	—
carbonat	H.	rotviolett
sulfat	M.	violett
nitrat	Sch. K.	—
triphosphat	„	*blau* mit violettem Stich
hypophosphit	M.	*blau*
wolframat	„	rotviolett
formiat	„	*blau* mit violettem Stich
lactat	„	*stark hellblau*
Kobaltchlorid	M.	rotviolett
nitrat	Sch. K.	—
sulfat	„	—
silikat	„	rotviolett
Kupferoxyd	M.	—
-1-chlorid	Sch. K.	*stark hellgrün*
-2-chlorid	„	rotviolett
-1-jodid	M.	violett
-2-jodid	„	rotviolett
nitrat	H.	violett
sulfat	„	—
-1-rhodanid	„	—
acetat	Sch. K.	rotviolett
Lanthanoxyd	—	„
Lithiumchlorid	Sch. K.	*blau* mit violettem Stich
sulfat	„	rotviolett
Magnesiumoxyd	„	„
chlorid	„	„
carbonat	„	„
sulfat	„	—
nitrat	„	rotviolett
ammonium-phosphat	„	*stark blau*
salicylat	„	*stark blau*

Verbindung	Herkunft	Fluoreszenz
Manganchlorid	H.	—
sulfat	„	rotviolett
acetat	„	rosa mit violettem Stich
oxalat	„	rotviolett
Molybdäntrioxyd	Sch. K.	„
Natriumhydroxyd	M.	schwach blaugrau
chlorid	H.	—
jodid	Sch. K.	*blaugrün*
sulfid	M.	—
selenid	„	rotviolett
azid	Sch. K.	*hellviolett*
carbonat	H.	rotviolett
bicarbonat	Sch. K.	„
sulfat	„	„
bisulfat	„	*blau*
sulfit	H.	rotviolett
thiosulfat	„	—
nitrat	„	—
nitrit	H.	rotviolett
triphosphat	Sch. K.	„
diphosphat	H.	—
pyrophosphat	„	—
arseniat	Sch. K.	*blau* mit violettem Stich
biborat	„	—
chlorat	Sch. K.	rotviolett
bichromat	H.	—
wolframat	M.	rotviolett
acetat	H.	„
oleat	M.	*blaugrün*
benzoat	Sch. K.	violett (in größeren Mengen grünlich)
salicylat	M.	*stark blau*
alizarinsulfonsaures	Sch. K.	*orangerot*

Verbindung	Herkunft	Fluoreszenz
Niobsäureanhydrid	Sch. K.	rotviolett
Nickel-2-oxyd	„	—
chlorid	M.	—
fluorid	Sch. K.	rotviolett
sulfat	„	„
nitrat	„	„
silikat	„	„
formiat	„	*stark karminrot*
acetat	„	rotviolett
Phosphorpentoxyd	„	*stark hellblau*
Quecksilberoxyd	„	—
-1-chlorid	„	*stark orange*
-2-chlorid	„	rotviolett
-1-jodid	„	—
-2-jodid	„	—
sulfid	„	—
sulfat	„	rotviolett
nitrat	„	„
chromat	„	—
cyanid	„	*bläulichweiß*
salicylat	„	*bläulichweiß*
Schwefelblumen	„	—
Siliciumdioxyd	„	rotviolett
Silberchlorid	„	—
sulfat	„	rotviolett
nitrat	„	*stark orange*
cyanid	„	rotviolett (in größeren Mengen gelblich)
rhodanid	„	rotviolett
acetat	„	„
succinat	„	*stark gelb*

Verbindung	Herkunft	Fluoreszenz
Strontiumchlorid	Sch. K.	rotviolett
bromid	„	„
sulfid	M.	*stark gelb*
nitrat	Sch. K.	rotviolett
phosphat	„	„
chromat	„	—
lactat	M.	*blau*
salicylat	„	*stark blau*
Thallium-1-jodid	„	—
-1-chlorid	„	rotviolett
-1-carbonat	M.	*blau* (in größeren Mengen weiß)
-1-sulfat	Sch. K.	—
-1-rhodanid	M.	rotviolett
Thoriumchlorid	„	*stark blau*
dioxyd	„	rotviolett
nitrat	„	„
formiat	„	*stark hellblau*
Titandioxyd	„	rotviolett
Uranylnitrat	Sch. K.	*stark gelbgrün*
sulfat	„	*stark gelbgrün*
acetat	„	*stark gelbgrün*
oxalat	„	*stark grün*
Vanadinsäureanhydrid	M.	—
Wismutoxyd	„	—
jodid	„	—
nitrat	Sch. K.	*blau* mit violettem Schimmer
Wolframtrioxyd	M.	—

Verbindung	Herkunft	Fluoreszenz
Zinn-2-chlorid	Sch. K.	rotviolett
sulfid	„	„
Zinkoxyd	„	*stark gelbgrün*
sulfid	„	*stark gelb*
sulfad	„	rotviolett
acelat	„	*blau* mit violettem Schimmer
oxalat	„	*stark grün*
salicylat	„	*stark gelb*

Sammelreferat: Kohlehydrate.

I. Teil: Mikrobestimmung der Kohlehydrate in reinen Lösungen und in den Bestandteilen des tierischen Körpers.

Von **Zacharias Dische**, Wien.

(Eingelangt am 7. Mai 1931.)

Die Mikrobestimmung der Kohlehydrate gewinnt sowohl für die Physiologie und Pathologie wie auch für die Klinik eine immer größere Bedeutung.

Die genaue Bestimmung dieser Körperklasse im biochemischen Material begegnet hauptsächlich zwei Schwierigkeiten. Die eine besteht darin, daß wir in den Organismen einem oft komplizierten Gemenge verschiedener Kohlehydrate gegenüberstehen, von denen einige noch ganz unzureichend charakterisiert sind. Wir sind deshalb manchmal nicht in der Lage, ganz richtig zu beurteilen, welchen Anteil die einzelnen Bestandteile an den Reaktionen haben, mittels deren wir den Kohlehydrategehalt in den Organismen bestimmen. Viele quantitative Angaben über die in bestimmten Bestandteilen des tierischen Körpers enthaltenen Kohlehydrate gelten nur mit dieser Einschränkung. Erst in den letzten Jahren sind erfolgreiche Versuche unternommen worden, um das Problem, die einzelnen Zucker des Blutes und der Organe nebeneinander auf mikrochemischem Wege zu bestimmen, der Lösung entgegenzubringen.

Die zweite Schwierigkeit, der bei Bestimmungen der Zucker in den Bestandteilen des tierischen Körpers besondere Aufmerksamkeit zugewendet werden muß, rührt von dem Umstand her, daß sich die Kohlehydrate im tierischen Körper natürlich im Gemenge mit zahllosen anderen organischen Substanzen befinden und daß die als Grundlage der Kohlehydratebestimmungen dienenden Reak-

tionen und physikalischen Eigenschaften in den meisten Fällen für dieselben nicht charakteristisch sind, sondern auch zahlreichen anderen organischen Körpern zukommen. So laufen die an organisiertem Material auszuführenden Bestimmungen Gefahr, durch die erwähnten Beimengungen verfälscht zu werden. Gerade in den letzten Jahren ist große Mühe darauf verwendet worden, um wenigstens für das Blut (seines klinischen Interesses wegen) sowohl ein zuverlässiges Verfahren zur Abtrennung der bei der Zuckerbestimmung störenden Nicht-Kohlehydrate von dem Blutzucker auszuarbeiten als auch Reaktionen ausfindig zu machen, welche einigermaßen die Gewähr dafür bieten, daß mit ihrer Hilfe tatsächlich nur die Kohlehydrate bei der Bestimmung erfaßt werden. Diese zahlreichen Arbeiten haben tatsächlich, soweit es sich um das Blut handelt, zu einem Erfolge geführt. Was die anderen Körperbestandteile dagegen betrifft, so ist hier dieselbe Arbeit noch zu leisten.

Zunächst sollen die einzelnen Methoden der Zuckerbestimmung im allgemeinen und dann ihre Anwendung auf Blut, Harn und Körperorgane unter Berücksichtigung der obenerwähnten Gesichtspunkte kurz besprochen werden.

I. Mikrobestimmung der Kohlehydrate in reinen Lösungen.

Von den zahlreichen für die Bestimmung der Zucker angegebenen Makromethoden fanden die gravimetrischen und polarimetrischen keine Verwendung für Mikrozwecke. Erst im Jahre 1930 hat J. W. Meyer[1]) ein Verfahren zur Bestimmung des Zuckers in zehnfach verdünntem Blut mit Hilfe des Moll'schen thermoelektrischen Mikrophotometers angegeben, das auf der Eigenschaft der Zucker, die Ebene des polarisierten Lichtes zu drehen, basiert.

Neben den titrimetrischen und gasometrischen haben sich in weitem Maße die kolorimetrischen Verfahren Geltung verschafft, in weit geringerem Maße und nur für besondere Zwecke die spektrophotometrischen und nephelometrischen. Nach den den Bestimmungsmethoden zugrunde liegenden Reaktionen kann man sie folgendermaßen einteilen:

[1]) Meyer-Rona's Ber., **58**, 332 (1931).

A. Reduktionsmethoden. Diese beruhen auf der Fähigkeit einfacher Zucker, Metallsalze und organische Substanzen zu reduzieren.

B. Gärungsmethoden. Diese machen sich die Eigenschaft der Zucker zunutze, durch gewisse Mikroorganismen, wie Hefe, Bact. coli, zu CO_2 vergoren werden zu können.

C. Methoden, die auf der Fähigkeit der Zucker, mit Phenylhydrazin Osazone zu bilden, basieren.

D. Methoden, die auf den charakteristischen Reaktionen der Kohlehydrate mit verschiedenen aromatischen Substanzen, wie Naphthol, Indol, Diphenylamin, Thymol, Phlorogluzin, in konzentrierten Mineralsäuren in der Hitze beruhen.

E. Einige spezielle Methoden, die auf charakteristischen Eigenschaften besonderer Kohlehydrate beruhen. Hierher gehört die kolorimetrische Bestimmung des Glykogens mit Hilfe der Jodreaktion, die nephelometrische nach Fällung mit Alkohol, die Bestimmung der Zuckerphosphorsäureester nach Embden und Lohmann.

A. Reduktionsmethoden.

Vom Prinzip der Bestimmung ausgehend, kann man folgende Methoden unterscheiden: Methoden, die auf der Reduktion der

1. Cuprisalze,
2. Mercurisalze,
3. des Kaliumferricyanids,
4. des Jods in alkalischer Lösung,
5. gewisser organischer Substanzen, wie Pikrinsäure, Dinitrosalicylsäure, gewisser Farbstoffe usw., begründet sind.

1. Kupferreduktionsmethoden.

a) Titrimetrische Methoden.

1. Manganometrische Methoden.

Diese Mikromethoden machen sich das von Bertrand eingeführte Prinzip zu eigen, das bei der Reduktion des Cuprisalzes ausgeschiedene Kupferoxydul abzufiltrieren, in einem oxydierenden sauren Reagens aufzulösen und den bei der Reduktion durch Cu_2O entstandenen Körper durch Kaliumpermanganat zu titrieren.

G. BERTRAND hat seine Methode für eine Menge von 10 mg aufwärts ausgearbeitet. Schon im Jahre 1914 hat L. MICHAELIS[1a]) versucht, dieses Makroverfahren ohne wesentliche Änderungen auch für Mengen bis zu 0,5 mg anzuwenden. Er verfuhr dabei so, daß er 10 bis 12,5 cm^3 der zuckerhaltigen Flüssigkeit mit 0,7 cm^3 der BERTRAND'schen Seignettesalzlösung und 0,3 bis 0,5 cm der Kupferlösung versetzte, 3 bis $3^1/_2$ Minuten sieden ließ, das gebildete Cu_2O durch 2 bis 5 Minuten (bei 2000 Touren) abzentrifugierte, das Zentrifugat bis auf 2 bis 3 cm^3 mit einer Kapillare abhob, die Restflüssigkeit, ohne aufzufüllen, nochmals durch 2 bis 5 Minuten zentrifugierte, worauf der Niederschlag am Glas haftete, und dann in der BERTRAND'schen Ferrisulfatlösung auflöste und mit $^1/_{10}$-n. Permanganatlösung titrierte. Bei 1 mg Zucker war der Fehler bis zu 10%. J. GREINER[2]) glaubte, die Resultate bei Verwendung des BERTRAND'schen Verfahrens verbessern zu können, indem sie der Zuckerlösung außer gleichen Mengen der beiden BERTRAND'schen Lösungen noch eine dritte in gleicher Menge hinzufügt, die in 1 Liter 150 g Na_2CO_3 und 30 g $NaHCO_3$ enthält, ansonsten sich aber streng an die Vorschriften von BERTRAND hält. Aber auch bei diesem Verfahren weichen die Werte der Doppelbestimmungen bis zu 10% voneinander ab. G. HUMBERT[3]) bestimmt 1 bis 2 mg Glukose genau nach der BERTRAND'schen Vorschrift, nachdem er zu 15 cm^3 der zu untersuchenden Zuckerlösung 1 cm^3 einer 1proz. Zuckerlösung hinzufügt und so die Konzentration des Zuckers in den Bereich bringt, für den noch die Makromethode gilt. Aber erst G. FONTÈS und L. THIVOLLE[4]), welche die Reduktion der FEHLING'schen Lösung unter verschiedenen Modifikationen einer sorgfältigen Untersuchung unterzogen, haben unter Beibehaltung des Prinzips von BERTRAND eine Mikromethode ausgearbeitet, die bei Bestimmungen von 0,1 mg wenigstens in reinen Lösungen mit einem Fehler von ± 3% behaftet ist. Diese Autoren zeigten, daß die Fehler bei der Anwendung der BERTRAND'schen Methode auf sehr kleine Zuckermengen daher herrühren, daß sich das Cu_2O in einer Form abscheidet, in der es leicht reoxydiert

[1a]) MICHAELIS, Biochem. Ztschr., **59**, 166 (1914).
[2]) J. GREINER, Biochem. Ztschr., **128**, 274 (1922).
[3]) HUMBERT, Journ. de path. et phys. gén., **26**, 377 (1923).
[4]) FONTÈS und THIVOLLE, Bull. Soc. chim. biol., **9**, 353—423 (1927).

wird. Diese Schwierigkeit konnte durch Zusatz einer großen Menge von K_2SO_4 zu der Reaktionsflüssigkeit behoben werden. Statt NaOH benützen die Autoren K_2CO_3, wodurch das Reagens für Zucker spezifischer wird. Die Konzentration der Ragenzien wurde so gewählt, daß bei möglichst großer Ergiebigkeit an Cu_2O (1 mg Glukose = 2,6 mg Cu) vollkommene Proportionalität zwischen Menge des Zuckers und der Menge des gebildeten Cu_2O besteht. Das richtig bereitete Reagens zeigt keine Selbstreduktion. Die Bestimmung gestaltet sich wie folgt: Zu 5 cm^3 der Zuckerlösung in einer (200×20 mm) Eprouvette werden 2 cm^3 eines Reagens hinzugefügt, das durch Vermischen von drei gleichen Teilen folgender drei Lösungen hergestellt wird:

Lösung I. 50 g saures, weinsaures Kali (puriss.!) werden in 800 cm^3 N-Schwefelsäure gelöst. 25 g $CuSO^4$, krist., werden in 80 cm^3 H_2O gelöst, der vorigen Lösung hinzugefügt und auf 1 Liter aufgefüllt.

Lösung II. 80 g K_2SO_4 in 1 Liter.

Lösung III. 280 g K_2CO_3 in 1 Liter.

Die Reagenzien sollen in der Reihenfolge I+II+III vermischt werden. Nun wird durch 20 Minuten in siedendem Wasserbade erhitzt und in kaltem Wasser abgekühlt. Dann erfolgt Filtration durch ein besonders hergestelltes, nicht zu dichtes Asbestfilter. Der Niederschlag wird nicht gewaschen, sondern durch einen eine halbe Minute dauernden Luftstrom von der Flüssigkeit möglichst befreit. Nun wird der Niederschlag in einem Phosphormolybdänsäurereagens gelöst. Dieses wird so hergestellt, daß 20 g Molybdänsäure und 10 g NaOH zu 500 cm^3 H_2O dazugegeben und in der Hitze aufgelöst werden, dann werden 200 g H_3PO_4, krist., hinzugefügt, eine Viertelstunde gekocht, nach dem Abkühlen konzentrierte Permanganatlösung tropfenweise bis zu dauernder Färbung hinzugesetzt und dann verdünnte F_2SO_4 bis zur Entfärbung tropfenweise zugesetzt. Das durch Reduktion der Phosphormolybdänsäure gebildete Molybdänblau wird mit $^1/_{400}$-n. Permanganatlösung bis zum Verschwinden der blauen Farbe titriert. 0,1 mg Zucker entsprechen zirka 1,7 cm^3 Permanganatlösung. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, daß der Endpunkt der Titration nicht an dem Auftreten der Rosafärbung durch überschüssiges Permanganat,

sondern an dem Verschwinden der viel intensiveren Blaufärbung des Phosphormolybdänreagens erkannt wird, wodurch die Verwendung sehr verdünnter Permanganatlösungen zur Titration ermöglicht wird.

2. Jodometrische Methoden.

Bei den jodometrischen Verfahren wird entweder die nach der Reduktion unverändert gebliebene Menge des Cuprisalzes oder das gebildete Cu_2O bestimmt. Die erstere Methode, die für Makrozwecke als die LEHMANN-MAQUENNE'sche allgemein bekannt ist, haben für Mikrozwecke P. FLEURY und E. BOUTOT[5]) angewendet, und zwar unter Zusatz von Kalium-Rhodanid zur FEHLING'schen Lösung, wie es BRUHNS und SCHOORL empfohlen haben, um das bei der Reaktion zwischen $CuSO_4$ und HJ gebildete Cu_2J_2 der Einwirkung des gleichzeitig freigemachten Jods zu entziehen.

Die zweite Gruppe der hierher gehörenden Verfahren mißt die Menge des gebildeten Cu_2O. Dabei wird die Reaktion zwischen Cu_2O (resp. Cu_2J_2) und J_2 entweder dadurch quantitativ in eine Richtung geleitet, daß die Konzentration des Cuprisalzes und des KJ durch entsprechende Verdünnung sehr klein gemacht wird oder daß das Cupri-Ion durch Zusatz von Oxalat nach ELBS in ein komplexes Ion umgewandelt wird und in dieser Form die Titration des Cuprojodids nicht mehr stört. Des ersteren Kunstgriffes bedienen sich die Methoden von H. MAC LEAN[6]) und J. BANG[7]), des zweiten diejenigen von P. A. SHAFFER und A. E. HARTMANN[8]), auch in ihrer Modifikation nach M. SOMOGYI[9]).

Die MAC LEAN'sche Methode, bei der zur alkalischen Kupfersalzlösung KJO_3 und KJ zugesetzt werden und nach dem Erhitzen durch Ansäuern J_2 freigemacht und das Cu_2O oxydiert wird, ist heute überholt. Um so wichtiger und verbreiteter ist die BANG-sche Methode.

Die Bestimmung nach J. BANG wird folgendermaßen ausgeführt: Zu 13 cm^3 der zuckerhaltigen Lösung (die in der ursprüng-

[5]) FLEURY und BOUTOT, Journ. de Pharm. et Chim., **26**, 209 (1922).

[6]) J. BANG, Biochem. Ztschr., **87**, 248 (1918), und **92**, 344 (1918).

[7]) MAC LEAN, Journ. Physiol., **50**, 168—182 (1916), und Biochem. Journ., **13**, 135—147 (1918).

[8]) SHAFFER und HARTMANN, Journ. biol. Chem., **45**, 365 (1920).

[9]) SOMOGYI, Journ. biol. Chem., **70**, 599 (1926).

lichen nur für Blut angegebenen Vorschrift in 1000 cm³ 650 cm³ gesättigter KCl-Lösung, 1,5 g Uranylacetat und 0,75 cm³ 25% HCl enthält) werden im Erlenmeyerkolben von 125 cm³ 2 cm³ einer Lösung von 75 g K_2CO_3 und 20 g Seignettesalz auf 1000 und 2 cm³ einer Lösung von 0,3567 g Kaliumjodat, 10 cm³ 20% H_2SO_4 und 2,5 $CuSO_4 + 5\,H_2O$ im Liter hinzugefügt. Der Kolben wird durch vier Minuten indirekt mittels eingeleiteten heißen Dampfes erhitzt. Nach dem Erhitzen wird das Reaktionsgemisch sofort mit 2 cm³ 20% H_2SO_4 versetzt, wodurch Jodsäure freigemacht und von dem Cu durch KCl in Lösung gehaltenen Cu_2O reduziert wird. Man läßt fünf Minuten stehen, setzt 25 cm³ H_2O und 0,5 bis 2 cm³ 5proz. KJ-Lösung hinzu und titriert mit $^2/_{1000}$ N-Na-thiosulfatlösung das nicht reduzierte Jodat zurück. Der Zusatz von Wasser hat den Zweck, die Konzentration der Cu-Ionen so weit herabzusetzen, daß keine merkliche Reaktion zwischen Cu-Sulfat und KJ unter Freimachen von Jod stattfindet und die Reaktion nur zwischen Cu_2O und KJO_3 vor sich geht. Die Differenz zwischen der bei der Zuckerlösung und der bei einer Leerprobe verbrauchten Menge Thiosulfat ist der Zuckermenge proportional. Die Methode erfordert sehr reine Reagenzien. Ihre Schwäche liegt darin, daß das bei der Reduktion gebildete Cu_2O in Lösung gehalten wird, wodurch es sich sehr leicht reoxydiert. Die Reaktion zwischen Jodsäure und Cu_2O erfordert eine gewisse Zeit, besonders wenn größere Mengen Cu_2O vorhanden sind, und dabei kann ein Teil des Cu_2O in manchmal unkontrollierbarer Weise oxydiert werden. Bei sehr sorgfältiger und gleichmäßiger Arbeitsweise ergibt aber die Methode nach den Befunden verschiedener Autoren sehr gute und verläßliche Resultate.

Die Methode von Shaffer-Hartmann ermöglicht die Titration des Cuprojodids in konzentrierter Lösung, da hier das Cupro-Ion statt durch Verdünnung durch Oxalat an der Teilnahme an der in entgegengesetztem Sinne verlaufenden Reaktion gehindert wird. Dadurch wird die Schärfe des Umschlags bei der Titration erhöht. Bei der Ausführung werden 5 cm³ der Zuckerlösung, die mindstens 0,1 mg Zucker enthalten müssen, in einer Eprouvete (etwa 250×25 mm) mit 5 cm³ des Kupferreagens durch 15 Minuten erhitzt. Das Reagens hat folgende Zusammensetzung: $CuSO^4 + 5$ H_2O 5, Weinsäure 7,5, Kalium carbon. anhydr. 40, KJ 10, KJO_3 0,7,

K-Oxalat 18,4 in 1000 cm³. Nach dem Erhitzen wird in kaltem Wasser abgekühlt, bis das Reaktionsgemisch 35° bis 40° angenommen hat, nunmehr 1 cm³ 5 NH_2SO_4 hinzugefügt und mit $^1/_{200}$-n. Thiosulfatlösung titriert. Es muß gleichzeitig eine Leerprobe angesetzt werden, deren Titer von demjenigen der Zuckerlösung abgezogen wird. Während des Erhitzens werden die Reagenzgläser mit kleinen Trichtern bedeckt, um die Luftkonvektion zu vermindern und so die Reoxydation des Kupferoxyduls zu erschweren.

M. Somogyi[9]) hat den Einfluß verschiedener Faktoren auf die Empfindlichkeit und Genauigkeit des Shaffer-Hartmann'schen Verfahrens untersucht und vor allem festgestellt, daß man durch Verwendung einer weniger stark alkalischen Reaktionsflüssigkeit eine größere Ergiebigkeit in bezug auf die Menge des gebildeten Cu_2O erzielen kann. Er empfiehlt deshalb, das Reagens so zu modifizieren, daß es $CuSO_4 + 5\,H_2O$ 6,5, Seignettesalz 12, Na_2CO_3 20, $NaHCO_3$ 25, KJ 10, KJO_3 0,8, K-Oxalat 18 in 1000 cm³ enthält. Die einer bestimmten Menge der verbrauchten Thiosulfatlösung entsprechende Menge Zucker wird bei der Shaffer-Hartmann-schen Methode einer besonderen Tabelle entnommen. Neuestens hat S. L. Thompsett[9a]) empfohlen, zur vollständigen Vermeidung der Reoxydation des Cu_2O der alkalischen Kupfertartratlösung nicht von allem Anfang an die Kaliumsalze (Jodid, Jodat und Oxalat) zuzusetzen, sondern die Zuckerlösung mit dem gleichen Volumen einer Lösung von 10 g $CuSO_4 + 5\,H_2O$, 15 g Weinsäure, 80 g Na_2CO_3 im Liter 15 Minuten zu erhitzen, das Cu_2O abzentrifugieren, zweimal mit Wasser waschen, in 10 cm³ einer Lösung von 10 g KJ, 0,7 KJO_3, 18,4 K-Oxalat im Liter und 10 cm³ $^1/_{10}$-n. H_2SO_4 lösen und das freigewordene Jod mit n/80-Thiosulfatlösung zu titrieren. 1 mg Zucker = 3,3 cm³ Thiosulfatlösung. In Stickstoffatmosphäre gibt die Methode dieselben Resultate wie an der Luft.

b) Die kolorimetrischen und spektrophotometrischen Methoden.

Die jodometrischen Methoden, die bis vor kurzem einzigen verläßlichen Mikrokupferreduktionsverfahren, erfordern große Sorgfalt bei der Arbeit, große Reinheit der Reagenzien und häufige

[9a]) G. L. Thompsett, Biochem. Journ., **24**, 1148 (1930).

Kontrolle der Titerflüssigkeiten. Es wurden deshalb in den letzten Jahren einige kolorimetrische Methoden ausgearbeitet, die ein etwas einfacheres Arbeiten ermöglichen. Auch hier gibt es einige weniger verbreitete Verfahren, bei denen die Menge des Zuckers aus der Menge des der Reduktion entgangenen Cuprisalzes errechnet wird.

Ein solches von G. ETIENNE und M. VERAIN[10]) angegebenes Verfahren ist von L. FABIAN[11]) verbessert worden. 0,6 cm³ der Zuckerlösung werden mit 0,4 cm³ einer Lösung von 60 g K_2CO_3, 12 g $KHCO_3$, 48 g KCNS und 0,9814 $CuSO_4 + 5\ H_2O$ in 200,0 versetzt, vier Minuten in siedendem Wasserbade erhitzt, das gebildete Cu_2O wird abzentrifugiert und die Flüssigkeit gegen eine Lösung von bekanntem Kupfergehalt kolorimetriert.

Viel wichtiger sind die Methoden, die auf der kolorimetrischen Bestimmung des bei der Reduktion entstandenen Cu_2O beruhen.

L. LORBER[12]) zentrifugiert das Cu_2O ab, löst es in H_2SO_4, oxydiert es zu CuO und kolorimetriert es wie L. FABIAN.

R. GOIFFON und F. NEPVEUX[13]) benützen die BERTRAND'schen Flüssigkeiten zur Reduktion, filtrieren das Kupferoxydul ab, lösen es in HCl und führen es durch Zusatz von $K_4Fe[CN]_6$ und Weinsäure in braunes, kolloidales Ferrocyankupfer über. Die braune Lösung wird nun mit einer auf dieselbe Art hergestellten Standardlösung von Ferrocyankupfer verglichen.

Auf demselben Prinzip wie die kolorimetrische Methode von GOIFFON und NEPVEUX beruht die spektrophotometrische Methode von D. CHARNASS[14]).

Alle diese Methoden, die eine Filtration des ausgeschiedenen Cu_2O erfordern, erscheinen nicht einfacher als die Titrationsverfahren. Auch scheinen die Autoren bei der Ausarbeitung der Verfahren der Reoxydation des Kupferoxyduls nicht die gebührende Aufmerksamkeit zugewendet zu haben.

Weit einfacher, zum Teil besser fundiert und sehr verbreitet sind

[10]) G. ETIENNE und M. VERAIN, Rev. med. de l'est, 637 (1921).
[11]) L. FABIAN, Biochem. Ztschr., **179**, 59 (1926).
[12]) L. LORBER, Biochem. Ztschr., **158**, 205 (1925).
[13]) GOIFFON und NEPVEUX, Cpte. rendu de la soc. de biol., **83**, 121—123, (1921).
[14]) CHARNASS, Abderhaldens Handbuch d. biol. Arbeitsmethoden, Abt. IV, Teil 4, S. 1139 (1927).

dagegen die vier von O. Folin sowie St. R. Benedict ausgearbeiteten Verfahren, die bis 0,01 mg Zucker zu bestimmen gestatten. Sie beruhen alle auf der Reaktion des Kupferoxyduls mit der Phosphormolybdänsäure unter Bildung von Molybdänblau. Die Intensität der dabei entstehenden blauen Farbe gibt das Maß für die Menge des gebildeten Cu_2O.

Das Verfahren nach Folin-Wu[15]) gestaltet sich in der letzten von O. Folin[16]) angegebenen Form folgendermaßen:

2 cm³ der Lösung, deren Zuckergehalt ermittelt werden soll, werden in einem Folin-Wu-Röhrchen mit 2 cm³ des Folin-Wu-Reagens durch acht Minuten gleichzeitig mit der Standardlösung in lebhaft siedendem Wasserbade erhitzt, abgekühlt, mit 4 cm³ des Folin'schen Molybdänreagens versetzt, eine Minute wird die Farbentwicklung abgewartet, dann mit dem auf die Hälfte verdünnten Molybdänreagens auf 25 cm³ aufgefüllt und die Zuckerlösung mit der Standardlösung kolorimetrisch verglichen. Das Folin-Wu-Reagens wird jedesmal frisch durch Zusammengießen von 5 cm³ einer fünfprozentigen Lösung von $CuSO^4 + 5\,H_2O$ (durch einen Tropfen H_2SO_4 angesäuert) und 45 cm³ einer alkalischen Lösung von 35 g Na_2CO_3 anhydr., 11 g $NaHCO_3$ und 13 g weinsaures Na im Liter. Das Molybdänreagens wird durch Zusammengießen von 500 cm³ einer 30prozentigen Lösung von Natriummolybdat (durch Schütteln mit einigen Tropfen Brom von oxydablen Substanzen befreit) mit 225 cm³ 85prozentiger Phosphorsäure, 150 cm³ 25volumprozentiger H_2SO_4, Durchleiten eines Luftstromes zur Entfernung des überschüssigen Broms, Hinzufügen von 75 cm³ Eisessig und Auffüllen auf 1 Liter hergestellt.

Das Erhitzen muß in Folin-Wu-Reagenzröhren erfolgen (deren kugelförmig aufgetriebenes Ende genau 4 cm³ faßt und in eine 4 cm³ lange Verjüngung von 8 mm Durchmesser mündet), weil auf diese Weise die Luftkonvektion während des Erhitzens und so die Reoxydation des Cu_2O verhindert wird.

Die zweite Folin'sche Methode[17]) unterscheidet sich von der vorhergehenden nur durch die schwächere Alkalität des Kupfer-

[15]) Folin-Wu, Journ. biol. Chem., **38**, 81 (1919), und **41**, 367 (1919).
[16]) O. Folin, Journ. biol. Chem., **82**, 83 (1930).
[17]) O. Folin, Journ. biol. Chem., **67**, 357 (1926).

reagens und die längere (15 Minuten statt 8) Dauer des Erhitzens. Das Reagens wird wie bei FOLIN-WU durch Zusammengießen von 5 cm³ der Kupferlösung mit 45 cm³ der alkalischen Lösung von weinsaurem Natrium, die aber nur 7,7 g Na_2CO_3 anhydr. neben 22 g $NaHCO_3$ und 13,2 g weinsaures Natrium im Liter enthält, hergestellt. Die geringere Alkalität des Kupferreagens soll bewirken, daß dasselbe spezifischer für Zucker wird, was bei Bestimmungen im biochemischen Material oft von Wichtigkeit ist. E. MORGULIS und E. LEGGET[18]) verwenden bei der FOLIN-WU-Methode statt des sauren Molybdänreagens ein Arsenwolframsäurereagens. Zu der genau nach FOLIN-WU hergestellten und behandelten, noch heißen Reaktionsflüssigkeit wird sofort nach dem nur sechs Minuten langen Erhitzen 1 cm³ des Arsenwolframreagens hinzugefügt, drei Minuten auskühlen gelassen, dann 1 cm³ 10proz. NaOH hinzugefügt und auf 25 cm³ aufgefüllt. Der Vorteil dieser Modifikation soll darin liegen, daß die entwickelte Farbe weit intensiver ist als mit der Phosphormolybdänsäure. Das Reagens wird so hergestellt, daß 100 g Na_2WoO_4 und 5 g As_2O_5 in 600 cm³ H_2O gelöst werden, dann 25 cm³ 85proz. H_3PO_4, 20 cm³ konz. HCl. hinzugefügt, 20 Minuten gekocht und nach Abkühlung auf 1000 aufgefüllt wird. Vor der Benützung werden 100 cm³ dieses Reagens 3 cm³ konz. HCl beigemischt. (St. R. BENEDICT's Harnsäurereagens.)

Die zwei von St. R. BENEDICT angegebenen Methoden haben das gemeinsam, daß der alkalischen Kupferlösung noch etwas Natriumsulfit hinzugefügt wird, wodurch erreicht wird, daß eine viel größere Menge Kupfer durch eine bestimmte Menge Zucker reduziert wird, während gleichzeitig durch die schwache Alkalität der Kupferlösung erreicht wird, daß Nichtzucker, die in Organismen vorkommen, eine nur schwache, reduzierende Wirkung ausüben. Nach der ersten Methode[19]) werden 2 cm³ der Zuckerlösung durch fünf Minuten in siedendem Wasserbade mit 2 cm³ eines Reagens erhitzt, das folgende Zusammensetzung aufweist: Krist. $CuSO_4$ 6,5, Na-Citrat 200, Na_2CO_3 anhydr. 60, Ammonium chlorid 9 auf 1000. In 100 cm³ dieser Lösung werden 2,5 bis 3 g Natriumsulfit gelöst. Die damit versetzte Lösung hält sich etwa einen Monat.

[18]) E. MORGULIS und C. LEGGET, Journ. lab. and clin. med., 8, 339 (1923).
[19]) S. R. BENEDICT, Journ. biol. Chem., 68, 759 (1926).

Nach Abkühlung des Reaktionsgemisches werden 2 cm³ von BENEDICT's Harnsäurereagens hinzugefügt, auf 25 cm³ aufgefüllt und gegen einen Glukosestandard kolorimetriert. Das NH_4Cl hält das gebildete Cu_2O in Lösung, was einen Nachteil bedeutet, da hierdurch die Reoxydation des Cu_2O sehr beträchtlich sein dürfte.

Die zweite[20]), spätere Methode von St. R. BENEDICT unterscheidet sich durch Verschiedenheit der benützten Kupferlösung und Verwendung der Phosphormolybdänsäure statt der Arsenphosphorwolframsäure zur Farbentwicklung. Hier wird die alkalische Kupferlösung kurz vor Gebrauch durch Zusammengießen gleicher Teile von Lösung A: $CuSO_4 + 5\,H_2O^4$, Natriumnitrat 200, Na_2CO_3 anhydr. 25, Alanin 10 auf 500 und Lösung B: Natriumnitrat 150, Seignettesalz 25 auf 500 und Hinzufügen von einem Tropfen 4proz. $NaHSO_3$-Lösung (4 bis 6 Wochen haltbar) auf 1 cm³ der Mischung hergestellt. Dieses Reagens zeichnet sich durch größere Spezifität der Glukose gegenüber aus als die früheren. Als Phosphormolybdänreagens kann dasjenige von O. FOLIN[20]) benützt werden.

Von diesem Gemisch werden 2 cm³ mit 2 cm³ der Zuckerlösung in einem FOLIN-WU-Röhrchen vermengt, zehn Minuten in siedendem Wasserbade erhitzt und nach Abkühlung mit 2 cm³ des Phosphormolybdänreagens nach FOLIN versetzt.

Zum Schluß sei noch die Elektrotitrationsmethode von E. MISLOWITZER[23]) erwähnt, die auf dem Prinzip der Methode von BERTRAND aufgebaut ist. Nur wird das gebildete Cu_2O nicht von der alkalischen Kupferlösung abgetrennt, sondern durch Hinzufügen der sauren Ferrisulfatlösung zum Reaktionsgemisch oxydiert und das entstandene Ferrosalz statt mit Permanganat bis zur Rosafärbung mit Bromat elektrometrisch titriert. Die Reaktionsflüssigkeiten unterscheiden sich von den BERTRAND'schen insofern, als daß sie statt des Seignettesalzes Na-Citrat enthalten.

2. Die Quecksilbereduktionsverfahren.

Die leichte Reoxydierbarkeit des Kupferoxyduls bot schon vor langer Zeit den Anlaß, an Stelle der Reduktion der Cuprisalze

[20]) S. R. BENEDICT, Journ. biol. Chem., **76**, 457 (1928).
[23]) E. MISLOWITZER, Biochem. Ztschr., **168**, 217 (1926).

diejenige der Mercurisalze in alkalischer Lösung zur Bestimmung der Zucker zu benützen, denn das bei diesem Verfahren sich bildende Quecksilber zeigt keine Tendenz zur Oxydation an der Luft. So entstanden die Makromethoden von KNAPP und SACHSSE sowie TACHAU. Als Quecksilberlösungen wurden die alkalischen Lösungen von $Hg(CN)_2$ in KCN oder HgJ_2 in KJ benützt. Eine Mikromethode auf dieser Grundlage haben im Jahre 1926 A. BAUDOUIN und J. LEWIN[21]) ausgearbeitet. Der Gang der Bestimmung gestaltet sich folgendermaßen: 10 bis 15 cm³ der Zuckerlösung, die 0,25 bis 1 mg Glukose enthalten, werden in einem Kölbchen mit je 1 cm³ einer Lösung A von 3,6 g HgJ_2 und 12 g NaJ in 100 H_2O und einer Lösung B von 1 n-NaOH (puriss. aus Natrium) gemischt und durch drei Minuten in siedendem Wasserbade erhitzt, dann abgekühlt und 1 cm³ einer $^1/_{10}$-n-KJO_3-Lösung (1,783 g KJodat in 1000 cm³ 5 volumproz. H_2SO_4) hinzugefügt. Das gebildete Jod löst das in Form eines grauen, feinen Pulvers ausgeschiedene Quecksilber in kurzer Zeit als HgJ_2 auf. Das Jod wird nun mit $^1/_{100}$- oder $^1/_{200}$-n-Thiosulfatlösung zurücktitriert. Die Menge x der Glukose ist dann gleich $\frac{10\text{-}n}{2{,}48}$ wo n die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter, $^1/_{100}$-n-Thiosulfatlösung bedeutet.

Statt in 10 bis 15 kann man die Bestimmung in 5 bis 8 cm³ Zuckerlösung ausführen. Man gibt dann natürlich nur je $^1/_2$ cm³ statt 1 cm³ von der Lösung A und B.

P. FLEURY und J. MARQUE[22]) haben empfohlen, dem Reaktionsgemisch Bariumsulfat in Pulverform vor dem Erhitzen hinzuzufügen. Dadurch bewirkt man eine feinere Verteilung des abgeschiedenen Quecksilbers und in der Folge eine raschere Auflösung durch Jod, was besonders bei größerer Konzentration der untersuchten Zuckerlösung von Wichtigkeit ist. Die Vorteile der Methode von A. BAUDOUIN und J. LEWIN[24]) bestehen in der Einfachheit und Raschheit des Arbeitsganges (nur drei Minuten langes Erhitzen) und des Fortfalles der Reoxydation des Reaktionsproduktes an der Luft, sowie auch darin, daß bei der Anwendung

[21]) A. BAUDOUIN und LEWIN, Bull. de la soc. de chimie biol., **9**, 280—309 (1927).

[22]) FLEURY und MARQUE, Bull. de la soc. de chimie biol., **12**, 58 (1930).

[24]) A. BAUDOUIN und J. LEWIN, Bull. de la soc. de chimie biol., **10**, 981 (1928).

auf biochemisches Material (Blut) die reduzierenden Nichtzucker in besonders einfacher und vollkommener Weise durch Quecksilbersalze entfernt werden können, ohne daß das Quecksilber, wie es bei Anwendung anderer Bestimmungsmethoden der Fall ist, vor der Bestimmung entfernt werden müßte. Die Menge des reduzierenden Mercurisalzes ist auch in weitem Maße von dem Grad der Alkalität der Lösung unabhängig, da man bei Ersatz des NaOH durch eine äquivalente Lösung von Na_2CO_3 keinen Unterschied in der Menge des abgeschiedenen Quecksilbers bemerkt. Ebensowenig ist die Verlängerung der Zeit des Erhitzens in dieser Hinsicht von Einfluß.

3. Die ferricyanimetrischen Methoden.

Neben den Kupferreduktionsmethoden haben die größte Verbreitung die Verfahren gefunden, die auf der Fähigkeit der Zucker, Ferricyanid in alkalischer Lösung in Ferrocyanid überzuführen, basieren. Den Kupfermethoden gegenüber haben sie den Vorteil, daß das bei der Reduktion entstehende Ferrocyanid keine Oxydation an der Luft erleidet, wodurch die Resultate auch ohne besondere Vorsichtsmaßnahmen beim Kochen und Abkühlen des Reaktionsgemenges konstanter werden. Demgegenüber steht der Nachteil der geringeren Spezifität der ferricyanimetrischen Methoden, da zahlreiche in den Organismen vorkommende Nichtzucker alkalische Ferricyanidlösungen in viel stärkerem Maße zu reduzieren befähigt sind, als es bei Cuprisalzlösungen der Fall ist.

a) Titrationsmethoden.

H. C. Hagedorn und B. N. Jensen[26]) haben ein Verfahren ausgearbeitet, welches besonders in Deutschland große Verbreitung gefunden hat. Das Kaliumferricyanid, das der Reduktion durch den Zucker in alkalischer Lösung entgangen ist, wird bei dieser Methode jodometrisch nach C. Mohr[27]) bestimmt. Die Reaktion verläuft nach der Gleichung $3\,H_3Fe(CN)_6 + 2\,HJ \rightleftarrows 2\,H_4Fe(CN)_6 + J_2$. Der Prozeß ist reversibel, kann aber quantitativ in einer Richtung verlaufen, wenn das gebildete Ferrocyanid aus der Lö-

[26]) Hagedorn und Jensen, Biochem. Ztschr., **135**, 46 (1923).

[27]) C. Mohr, Annalen der Chemie und Pharm., **105**, 60.

sung durch Bildung des unlöslichen Zinksalzes entfernt wird. Die Bestimmung gestaltet sich so, daß zu 12 cm³ der Zuckerlösung in einem Präparatenglas (30×90 mm) 2 cm³ einer Lösung von 1,65 reinstem, umkristallisiertem Kaliumferricyanid und 10,6 g geglühtem Na_2CO_3 im Liter versetzt werden und das Ganze durch 15 Minuten in siedendem Wasserbade erhitzt wird. Nach dem Abkühlen werden 3 cm³ einer Lösung von 25 g KJ, 50 g $ZnSO_4 + 7\,H_2O$ und 250 g NaCl im Liter, 2 cm³ 3proz. Essigsäure (KAHLBAUM pro anal.), zwei Tropfen Stärkelösung hinzugefügt und mit $^1/_{200}$-n-Thiosulfatlösung titriert. Gleichzeitig wird auch der Leerwert bestimmt und aus der Differenz beider Werte mit Hilfe einer Tabelle die Menge des Zuckers festgestellt. Alle zur Bestimmung verwendeten Reagenzien müssen ganz rein (eisenfrei) sein. Die Kaliumjodidlösung muß täglich durch Auflösen von KJ in der Zinksulfat-NaCl-Lösung bereitet werden.

L. FLATOW[28]) empfiehlt, das überschüssige Ferricyanid statt jodometrisch durch Titration mit einer 0,2proz. Indigokarminlösung zu bestimmen. Zwei Moleküle $K_3Fe(CN)_6$ oxydieren ein Molekül Indigokarmin. 5 cm³ der Zuckerlösung werden mit 2 cm³ einer $^1/_{499}$-n-Kaliumferricyanidlösung und 0,1 cm³ kaltgesättigter Na_2CO_3-Lösung versetzt und durch 15 Minuten im Wasserbade erhitzt. Nach dem Abkühlen werden 3 cm³ 25proz. K_2CO_3-Lösung dazugegeben und titriert. Der Endpunkt ist an dem Übergang der gelben Farbe des Ferricyanids über farblos in Grünblau auf einem Tropfen genau zu erkennen. Der Vorteil dieses beachtenswerten Verfahrens liegt darin, daß 0,1 mg Glukose zirka 2 cm³ der Indigokarminlösung entsprechen und der Leerwert minimal ist.

M. JONESCU[29]) bestimmt das bei der Reduktion des Ferricyanids gebildete Ferrocyanid durch Titration mit $KMnO_4$, wie es von de HAEN zuerst empfohlen worden ist. 1 bis 5 cm³ der zuckerhaltigen Flüssigkeit mit 0,5 bis 1 mg Glukose werden mit 6 cm³ H_2O und 4 cm³ einer Lösung 46 g $K_3Fe(CN)_6$ und 46 g KOH im Liter durch eine Minute erhitzt, abgekühlt und mit einer $KMnO_4$-Lösung (1,6 g im Liter) bis zum Verschwinden der Grünfärbung (nicht bis zum Auftreten der Rosafärbung) titriert. 1 cm³ der Titrierflüssigkeit = 1 mg Glukose.

[28]) L. FLATOW, Biochem Ztschr., **194**, 132 (1928).

[29]) JONESCU, Bull. de la soc. de chimie biol., **10**, 252 (1928).

b) Kolorimetrische Methoden.

Die am meisten erprobte und verbreitetste ist die neueste Methode von O. Folin[30, 30a, 31]). Je 4 cm³ der zuckerhaltigen Lösung, die 0,02 bis 0,3 mg Zucker enthalten können, und einer Standardlösung werden in einem Reagenzrohr mit 2 cm³ einer 0,4proz. Kaliumferricyanidlösung und 1 cm³ einer Lösung von 16 g Na_2CO_3 anhydr. und 3 g NaCN im Liter vermischt. Man erhitzt durch acht Minuten in siedendem Wasserbade, kühlt ab und setzt 5 cm³ einer Ferrisulfatlösung dazu, die 5 g $Fe_2(SO_4)_3$ anhydr., 75 cm³ 85proz. Phosphorsäure, 20 g Gummighatti in 1000 cm³ enthält. Zu dieser Lösung wird nach der Herstellung ca. 15 cm³ 1proz. $KMnO_4$-Lösung tropfenweise zugesetzt, um gewisse Verunreinigungen des Gummighatti zu zerstören. Das abgekühlte Reaktionsgemenge wird mit Wasser (unter Zusatz von einigen Tropfen Alkohol, um Schaumbildung zu verhüten) auf 25 cm³ aufgefüllt und kolorimetriert. Bei der Kolorimetrie bedient man sich eines gelben Farbenfilters, um die Eigenfarbe der Ferricyanidlösung auszuschalten. Dieses Farbenfilter wird durch Übergießen kleiner Filter mit 5proz. Lösung von Pikrinsäure in Methylalkohol (dem auf 100 cm³ 5 cm³ 10proz. NaOH-Lösung zugefügt wurden), Austrocknenlassen und nachträglichem Übergießen einer 3proz. Lösung von Paraffin in Benzin und Abdunstenlassen hergestellt. Das Farbenfilter muß bewirken, daß im Kolorimeter Kaliumferricyanidlösung gegen reines Wasser so eingestellt werden kann, daß beide Gesichtsfelder gleich hell erscheinen.

Einfacher, wenigstens in bezug auf Herstellung der Reagenzien, ist die Methode von G. Ogawa und Keiso[32]), Kodama, die aber weniger spezifisch für Zucker ist.

Eines anderen Prinzips bedient sich die kolorimetrische Methode von D. D. Van Slyke und J. A. Hawkins[33]). Hier wird die Zeit bestimmt, in welcher eine Kaliumferricyanidlösung bestimmter Konzentration von der Zuckerlösung unbekannter Konzentration völlig entfärbt wird. Die Konzentration der Zuckerlösung wird

[30]) O. Folin, Journ. biol. Chem., **77**, 421 (1928).
[30a]) O. Folin, Journ. biol. Chem., **81**, 231 (1929).
[31]) O. Folin und Malmros, Journ. biol. Chem., **83**, 115 (1929).
[32]) Ogawa und Keiso Kodama, Journ. of Biochem., **10**, 1—4 (1928).
[33]) Van Slyke und Hawkins, Journ. biol. Chem., **84**, 69, (1929).

einer empirisch geeichten Kurve entnommen. Die Ausführung ist sehr einfach. 0,5 cm³ der Zuckerlösung (mit nicht mehr als 0,7 mg Zucker) werden in einer Eprouvette (9×1,90 mm) mit 0,5 cm³ einer Lösung, die 0,5 g $K_3Fe(CN)_6$, 75 g wasserfreien K_2CO_3 und 75 g $KHCO_3$ im Liter enthält, gemischt und in einer weiß glasierten Kasserolle bis zum vollständigen Schwinden der gelben Farbe erhitzt. Die Zeit wird für jede Probe mit einer Stoppuhr festgestellt, und aus einer empirisch geeichten Kurve die zugehörige Zuckerkonzentration entnommen. Fehler ± 5proz.

c) Gasometrische Methoden.

Eine gasometrische Methode haben D. D. Van Slyke und J. A. Hawkins[34]) ausgearbeitet. Die Autoren haben die Bedingungen der Reduktion des Kaliumferricyanids in ihrer Abhängigkeit von dem Alkalitätgrad, der Zeitdauer des Erhitzens und Konzentration des Ferricyanids untersucht und die optimalen Bedingungen festgestellt. Die Methode basiert auf der von Ray und Sen[35]) angegebenen Reaktion: $4\,K_3Fe_6(CN)_6 + N_2H_4 + 4\,NaOH = 4\,K_3NaFe(CN)_6 + 4\,H_2O + N_2$. Das Volumen des entwickelten Stickstoffes wird im Van Slyke-Neil-Apparat vor der Reduktion und nach der Reduktion gemessen und aus der Differenz die Menge des in der Lösung befindlichen Zuckers errechnet. 3 cm³ der Zuckerlösung (die 0,03 bis 0,2 mg Zucker enthalten kann) werden mit 1,5 cm³ einer Lösung von 4 g $K_4Fe(CN)_6$ und je 75 g K_2CO_3 und $KHCO_3$ im Liter in einem mit Gummistopsen, durch den eine kurze Kapillare durchgeht, verschlossenen Rohr durch 20 Minuten im siedenden Wasserbade erhitzt, abgekühlt und eine Minute gut geschüttelt, um die erhitzte Lösung wieder mit Luft zu sättigen. Dann werden 3 cm³ des erhitzten Reaktionsgemenges im Apparat mit 2 cm³ der alkalischen Hydrazinlösung (1 Teil gesättigter Lösung von Hydrazinsulfat + 1 Teil 40% NaOH aus Natrium Merck) vermischt und die Menge des entstehenden Stickstoffs gemessen.

Dieselbe Reaktion zwischen Kaliumferricyanid und Hydrazin, die dem Van-Slyke-Verfahren zugrunde liegt, haben A. Foujita und K. Okamoto[36]) zum Prinzip ihrer manometrischen Methode

[34]) Van Slyke und Hawkins, Journ. biol. Chem., **79**, 739 (1928).

[35]) Ray und Sen, Ztschr. f. anorg. Chem., **76**, 380.

[36]) Foujita und Okamoto, Biochem. Ztschr., **225**, 308 (1930).

gemacht, die den Vorzug größerer Einfachheit, Empfindlichkeit und Spezifität besitzen dürfte.

4 cm³ der zuckerhaltigen Flüssigkeit (beim Blut des 1 : 10 Folin-Wu-Filtrats) werden mit 1 cm³ eines Reagens, das 1,5 g $K_3Fe(CN)_6$, 14 g sek. Kaliumphosphat und 4,25 g tert. Kaliumphosphat in 100 cm³ enthält, durch 15 Minuten in siedendem Wasserbade in einem Reagenzglas mit eingeschliffenem Glasstöpsel erhitzt. In 3 cm³ des Reaktionsgemisches wird nun durch Hinzufügen von 0,2 cm³ einer alkalischen Hydrazinsulfatlösung auf Grund der 4 Vol. gesättigter Hydrazinlösung plus 1 Vol. gesättigter KOH-Lösung die Menge des aus dem nicht reduzierten $K_3Fe(CN)_6$ entstandenen Stickstoffes in einem Warburgschen Manometer gemessen. Die Verwendung eines Phosphatpuffers statt des Karbonatpuffers für die Kaliumferricyanidlösung bringt den Vorteil, daß die Menge des reduzierten Ferricyanids der Menge Glukose proportional ist, was bei Benützung der Reagenzien nach Hagedorn-Jensen nicht der Fall ist.

4. Verfahren, die auf der Reduktion organischer Substanzen beruhen.

Von diesen sind drei Methoden sorgfältig ausgearbeitet worden: Die Pikrinsäuremethode sowie die Pikrinsäure-Aceton-Methode von St. R. Benedict und die auf der Reduktion der 3,5-Dinitrosalizylsäure basierende Methode von J. B. Sumner. Nach St. R. Benedict[37]) wird die Bestimmung wie folgt ausgeführt: 4 cm³ der Zuckerlösung, die 0,5 bis 2 mg Zucker enthalten können, werden mit 1 cm³ einer 20proz. Lösung von Na_2CO_3 anhydr. und 4 cm³ einer Lösung von 36 g Pikrinsäure und 500 cm³ 1proz. NaOH im Liter in einem Reagenzglas, das bei 12,5 und 25 cm³ eine Marke hat, gemischt, dann 10 Minuten in siedendem Wasserbade erhitzt, abgekühlt, auf 12,5 oder 25, je nach Zuckergehalt, aufgefüllt und mit einem Pikraminsäurestandard (105 cm³ einer 0,01proz. Pikraminsäurelösung in 0,02proz. Na_2CO_3 + 0,5 cm³ 20proz. Na_2CO_3 + 15 cm³ der zur Reduktion verwendeten Pikrinsäurelösung auf 300 aufgefüllt) verglichen. Dieser Standard entspricht einer Lösung von 1 mg Glukose in 4 cm³ Wasser. Statt dieses Standards kann man eine Lösung von 0,536 g Kaliumbichromat in einem Liter Wasser

[37]) St. R. Benedict, Journ. biol. Chem., **34**, 195 (1918).

benützen. Proportionalität zwischen Farbe und Zuckergehalt ist nur vorhanden, wenn die verglichenen Lösungen in der Konzentration nur wenig voneinander abweichen.

Die Pikrinsäure wird in alkalischer Lösung nicht nur von Zukkern, sondern auch von vielen anderen in Organismen vorkommenden Substanzen reduziert. In dieser Hinsicht ist sowohl die zweite BENEDICT'sche[38]) wie auch die von J. B. SUMNER angegebene Methode derselben überlegen. St. R. BENEDICT und E. OSTERBERG[38]) haben nämlich gezeigt, daß man durch Zusatz von Aceton zu ihrem Pikrinsäurereagens dasselbe spezifischer für Traubenzucker machen kann. Besonders die Reduktion durch Kreatinin wird unter diesen Umständen völlig aufgehoben. Das Verfahren hat nur für die Bestimmung des Harnzuckers Verwendung gefunden.

Nach J. B. SUMNER[39, 40, 41]) wird 1 cm^3 der Zuckerlösung (etwa 1 mg enthaltend) mit 1 cm^3 einer 2proz. Lösung von 3,5 dinitrosalizylsaurem Natrium und 2 cm^3 15proz. NaOH-Lösung durch fünf Minuten erhitzt. Gleichzeitig wird in derselben Weise ein 1 mg im Kubikzentimeter enthaltender Glukosestandard erhitzt. Man verdünnt nach Abkühlung auf 25 bis 100 cm^3 und kolorimetriert.

Von den auf der Reduktion von Farbstoffen basierenden Methoden, die noch 1 mg Glukose zu bestimmen gestatten, sei die von J. A. MILROY[42]) erwähnt, die auf der Reduktion von Nitroantrachinonsulfosäure zu roter Aminoverbindung in 10proz. Kaliumkarbonatlösung beruht. Ferner die auf Methylenblaureduktion beruhende von W. EISENHARDT[43]) und die auf Reduktion der Orthonitropropiolsäure von D. MORCK[44]). Diese Methoden sind nicht genügend fundiert.

Die auf der Oxydation des Zuckers zu Glukonsäure durch alkalisches Hypojodid nach der Gleichung:

$$C_6H_{12}O_6 + J_2 + 3\ NaOH = CH_2OH\text{-}(CHOH)_4COONa + 2\ NaJ + H_2O$$

[38]) BENEDICT und OSTERBERG, Journ. biol. Chem., **48**, 50 (1921).
[39]) J. B. SUMNER, Journ. biol. Chem., **47**, 5 (1921).
[40]) J. B. SUMNER, Journ. biol. Chem., **62**, 287 (1925).
[41]) J. B. SUMNER, Journ. biol. Chem., **65**, 393 (1925).
[42]) MILROY, Biochem. Journ., **19**, 746 (1925).
[43]) EISENHARDT, M. med. Wochenschr., S. 1382 (1920).
[44]) MORCK, M. med. Wochenschr., S. 201 (1929).

beruhende Bestimmungsmethode der Aldosen nach R. Willstätter und W. Schudel[45]) kann nach J. Bang sowie O. Meyerhof und K. Lohmann[46]) für sehr kleine Zuckermengen Verwendung finden. Etwa 5 cm³ der zuckerhaltigen Flüssigkeit werden mit 10 cm³ $^1/_{100}$-n-Jodlösung und 1,5 cm³ $^1/_{10}$-n-NaOH versetzt und 25 bis 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wird mit 2 cm³ $^1/_{10}$-n-H_2SO_4 angesäuert und das überschüssige Jod mit $^1/_{100}$-n-Thiosulfat zurücktitriert. 1 mg einer Aldohexose verbraucht 1,1 cm³ $^1/_{100}$-n-Jodlösung. Auch die methylierten Aldohexosen verbrauchen ebensoviel Jod.

B. Die auf der Vergärung des Zuckers basierenden Bestimmungsmethoden.

Die auf der Vergärung der Zucker beruhenden Methoden, die für Makrozwecke in dem van Iterson-Kluyver'schen Verfahren zu größter Vollkommenheit ausgebildet wurden, sind in den letzten Jahren zu brauchbaren Verfahren für Mikrozwecke ausgearbeitet worden. Man kann prinzipiell auf die Menge des vergorenen Zukkers entweder aus dem Zuckerschwund direkt oder aus der Menge der gebildeten Kohlensäure schließen. Das erstere Verfahren konnte erst auf Grund des wichtigen Befundes von Mathews und von M. Somogyi [48, 49]), daß die Hefe Glukose in verdünnter Lösung schon nach einigen Sekunden quantitativ aufnimmt, ohne gleichzeitige Produktion einer äquivalenten CO_2-Menge für Mikrozwecke Verwendung finden. Dieser Autor verfährt so, daß er die zu untersuchende Zuckerlösung (mit einigen Zehntelprozent Zukker) mit dem mehrfachen Volumen einer 10proz. Hefesuspension versetzt und nach einigen Sekunden schon die Hefe durch Folin-Wu-Enteiweißung entfernt. Im Filtrat bestimmt er wiederum die Reduktion nach seiner Methode[9]). Aus der Differenz errechnet man die vergorene Menge der Glukose. M. Somogyi gibt an, daß diese rapide Zuckeraufnahme seitens der Hefe nur dann vor sich geht, wenn in der Zuckerlösung Eiweißkörper vorhanden sind.

---

[45]) Willstätter und Schudel, Chem. Ber., **51**, 780 (1918).
[46]) Meyerhof und Lohmann, Biochem. Ztschr., **185**, 113 (1927).
[48]) Somogyi, Proc. Soc. Exp. Med., **24**, 320 (1927).
[49]) Somogyi, Journ. biol. Chem., **75**, 33 (1927).

Aber A. L. RAYMOND und J. G. BLANCO[50]) konnten das nicht bestätigen. In ihren Versuchen fand die Zuckeraufnahme auch ohne Eiweiß statt. Nur gärfähige Zucker werden von der Hefe aufgenommen. Quantitativ nur die Glukose.

Auf der Messung der durch Hefegärung gebildeten Kohlensäure beruhen die Methoden von J. R. WAGNER[51]) und von E. GRAFE und K. SORGENFREI[52]).

Bei der ersteren Methode wird das bei der Gärung gebildete CO_2 durch NaOH absorbiert und dann in dem VAN SLYKE'schen CO_2-Bestimmungsapparat bestimmt. Je nach dem Zuckergehalt (0,1 bis 0,5proz.) werden 1 bis 3 cm³ der zu untersuchenden Lösung (die Methode ist für Plasma ausgearbeitet worden) in einem Reagenzglas (160×14 mm) mit dem doppelten Volumen Wasser und 0,5 bis 15 cm³ 5proz. Weinsäurelösung gemischt. Zur Entfernung des CO_2 wird das Gemisch für 15 Minuten in das siedende Wasserbad gebracht. Nach 5 und 15 Minuten wird umgerührt. Nach Abkühlung des Gemisches auf Zimmertemperatur wird 0,2 cm³ einer Suspension von mehrmals gewaschener Hefe in 0,8proz. NaCl-Lösung zugesetzt. Nun wird auf das Reagenzglas ein durchbohrter Gummistopfen aufgesetzt, durch dessen Bohrung eine 1 cm³ fassende, 0,6 cm³ CO_2freien 10proz. NaOH enthaltende Luerspritze derart gesteckt, daß das Nadelansatzstück unten frei herausragt. Der Kolben der Spritze wird dabei so weit herausgezogen, daß ihre Öffnung mit etwas Luft gefüllt ist. Nach zwölfstündiger Einwirkung des Ferments wird die NaOH-Lösung in das Reagenzglas hineingedrückt und der Inhalt vorsichtig geschüttelt. Das alkalische Gemisch wird in den etwas abgeänderten VAN SLYKE'schen Apparat gebracht und das absorbierte CO_2 bestimmt, wobei zu seiner Austreibung 1 cm³ 50proz. H_2SO_4, zu seiner Bindung 2 cm³ 10proz. NaOH verwendet werden. Gleichzeitig wird in derselben Weise ein Leerversuch mit physiologischer, zuckerfreier Kochsalzlösung ausgeführt, um den durch Eigengärung der Hefe und Löslichkeit des CO_2 bedingten Fehler zu korrigieren. Bei zwölfstündiger Versuchsdauer der Fermenteinwirkung bleiben 1,4 Proz. des Zuckers unvergoren. Bei Verwendung von a cm³ Blut-

[50]) RAYMOND und BLANCO, Journ. biol. Chem., **79**, 649 (1928).

[51]) R. J. WAGNER, Journ. o. metabol. research, Bd. **5**, 353—363 (1925).

[52]) GRAFE und SORGENFREI, Deutscher A. f. klin. Med., **145**, 294—309 (1924).

plasma für die Bestimmung ist die Zuckerkonzentration in mg% =

$$= \frac{V\,CO_2}{1+at} \times \frac{b\text{-}f}{760} \times \frac{1.965}{96.4a} \times 2.10^4,$$

wobei V CO_2 das auf 0° und 760 mm Druck reduzierte tatsächliche CO_2-Volumen, t die Temperatur im Apparat, b Barometerstand und f Dampfdruck des Wassers bei der Temperatur t ist. Bei Verwendung von 3 cm³ Plasma betragen die Fehler nicht mehr als 1,5 Proz.

Bei der Methode von Grafe und Sorgenfrei, die speziell für das Vollblut adaptiert worden ist, wird das bei der Gärung entwickelte CO_2 in einem Barcroft-Manometer gemessen. Da sie ihre Methode hauptsächlich für Blut ausgearbeitet haben, soll sie bei der Besprechung der Blutzuckerbestimmungen näher erörtert werden. P. Rona und H. W. Nicolai[53]) benützen das bei Vergärung einer Zuckerlösung durch Bact. coli durch auftretende Säuren aus $NaHCO_3$-Lösung ausgetriebene CO_2 als Maß der Zuckerkonzentration. Hierbei wird angenommen, daß aus einem Glukosemolekül stets zwei Säureäquivalente entstehen und daß ferner aus dem Zucker direkt keine Kohlensäure sich bildet. Nach K. P. Jacobsohn[54]) ist aber diese letztere Veraussetzung nicht erfüllt. Es soll bei der Bact. coli-Gärung sowohl CO_2 wie H_2 entstehen und dadurch die Resultate verfälscht werden. Die Menge der ausgetriebenen Kohlensäure messen P. Rona und W. A. Nicolai manometrisch mit der Apparatur von Warburg.

C. Bestimmung der Zucker mit Hilfe charakteristischer Farbreaktionen.

G. Denigès[55]) hat die Gelbfärbung, die Zuckerlösungen beim Erhitzen mit Phenylhydrazin in essigsaurer Lösung infolge Osazonbildung zeigen, zur kolorimetrischen Auswertung der Zuckerkonzentration empfohlen. Er versetzt 5 cm³ der zu untersuchenden Zuckerlösung (etwa 1 bis 5 mg Zucker enthaltend) mit 1 cm³ einer konzentrierten sauren Lösung von Phenylhydrazin und erhitzt zusammen mit dem Standard durch fünf Minuten im sieden-

[53]) Rona und Nicolai, Biochem. Ztschr., **172**, 82, und **172**, 218 (1926).

[54]) Jacobsohn, Biochem. Ztschr., **220**, 42 (1930).

[55]) Denigès, cit. nach Baudouin und Lewin, Bull. de la Soc. de chim. biol., **10**, 981 (1928).

den Wasserbade. Das sich etwa ausscheidende Osazon wird durch Zusetzung von 1,5 cm³ Eisessig gelöst und dann kolorimetriert.

Die charakteristischen Farbreaktionen, die die Zucker beim Erwärmen mit gewissen aromatischen Substanzen zeigen, wurden frühzeitig zur quantitativen Schätzung derselben herangezogen. Schon 1911 versuchten REICHER und STEIN[56]) mit Hilfe der MOLISCH-Reaktion den Blutzucker zu bestimmen. Z. DISCHE und H. POPPER[57]) haben zur Bestimmung der Kohlehydrate in biochemischem Material die von FLEIG zuerst beschriebene Reaktion mit Indol und Schwefelsäure herangezogen. Die Bestimmung wird so ausgeführt, daß zu 1 cm³ Zuckerlösung (0,05 bis 0,5 mg Zukker enthaltend) entweder 9 cm³ einer 77,5 volumproz. Schwefelsäure und 0,3 cm³ 1proz. alkoholischer Indollösung oder zu 2 cm³ 4 cm³ konz. H_2SO_4 (D, 1,84) und 0,2 cm³ der Indollösung unter Kühlung hinzugefügt werden, und das Gemisch durch zehn Minuten zusammen mit einer Zuckerstandardlösung erhitzt wird. Die unbekannte Konzentration der Zuckerlösung wird nach dem kolorimetrischen Vergleich mit dem Standard nach einer empirischen Formel berechnet. Z. DISCHE[57a]) zeigte dann, daß die Abweichungen von der Proportionalität zwischen Zuckerkonzentration und Farbintensität auf die Eigenfarbe, die das Reagens beim Erhitzen entwickelt, zurückzuführen ist und daß nach Kompensation dieser Eigenfarbe vollständige Proportionalität bis zu einer Konzentration des Zuckers von 0,001 Proz. zu erreichen ist, und so noch 0,005 mg Glukose bestimmt werden können.

B. GLASSMANN[58]) bestimmt den Zucker auf Grund der braunen Farbe, die beim stundenlangen Erhitzen der Kohlehydrate mit Resorcin und Salzsäure entsteht.

J. TILLMANS und K. PHILIPPI[59]) haben die TOLLEN'sche Reaktion der Kohlehydrate mit Orzin und Schwefelsäure zu ihrer quantitativen Bestimmung herangezogen. Zu 1 cm³ der Zuckerlösung werden 15 cm³ verdünnter H_2SO_4 (9 H_2SO_4 konzentriert + 6 H_2O) und 0,5 cm³ 2proz. Orzinlösung hinzugefügt und zehn Minuten in

[56]) REICHER und STEIN, Verh. d. Kongr. für innere Med., **27**, 401 (1910).
[57]) DISCHE und POPPER, Biochem. Ztschr., **175**, 371—411, (1926).
[57a]) Z. DISCHE, Mikrochemie, **1**, 1 (1929).
[58]) B. GLASSMANN, Ztschr. physiol. Chem., **150**, 16 (1925).
[59]) TILLMANS und PHILIPPI, Biochem. Ztschr., **215**, 36 (1929).

siedendem Wasserbade erhitzt und dann mit einem ebenso behandelten Glukosestandard kolorimetrisch verglichen.

D. Bestimmung mehrerer Kohlehydrate im Gemische nebeneinander.

Die bisher erwähnten Methoden gestatten, die Menge eines Zuckers zu bestimmen, wenn er sich allein in Lösung befindet. Im biochemischen Material haben wir es immer mit einem Gemenge verschiedener Zucker zu tun. Zwar überwiegt meist ein Zucker derart, daß man praktisch oft die anderen vernachlässigen kann, wie der Traubenzucker im Blute normaler Individuen oder im Harne der Diabetiker, aber manchmal erwächst die Aufgabe, andere Zucker neben Glukose zu bestimmen. Glykogen und Dextrin können durch Alkoholfällung, Zuckerphosphorsäureester durch Fällung mit Baryt abgetrennt werden. Nicht gärfähige Zucker, wie die Galaktose, können nach Aufnahme des Traubenzuckers durch Hefe nach M. Somogyi[48, 49]) bestimmt werden. Sonst muß man die nebeneinander in Lösung befindlichen Zucker auf Grund der Verschiedenheit ihrer Reaktionsfähigkeit gegenüber besonderen Reagenzien quantitativ erfassen. Die Verschiedenheit des Reduktionsvermögens (s. Ch. F. Poe[60]) und J. Greenwald[61]) ist meistens nicht genügend groß, um darauf Bestimmungsmethoden gründen zu können. Nur die Methode von R. Willstätter und W. Schudel konnte für die Bestimmung der Aldosen neben Ketosen Verwendung finden. Dagegen hat Z. Dische[62]) in der letzten Zeit gezeigt, daß man beliebig viele Monosaccharide im Gemisch nebeneinander mit Hilfe der Farbreaktionen, die sie in Salz und Schwefelsäure mit Naphthol, Indol, Diphenylamin und Phloroglucin in der Hitze geben, bestimmen kann. Bei manchen dieser Reaktionen zeigen einzelne Monosaccharide sehr große Unterschiede in der auftretenden Farbintensität, während bei anderen die Unterschiede nur klein sind. So zeigt bei der als Naphtholreaktion II bezeichneten Farbreaktion, bei der ein Teil der Zuckerlösung mit 0,25 cm³ einer 2proz. alkoholischen Naphthollösung und 9 cm³ einer 75volumproz. H_2SO_4 versetzt und

[60]) Ch. F. Poe, Journ. biol. Chem., **87**, 7 (1930).
[61]) J. Greenwald, Journ. biol. Chem., **62**, 401 (1924).
[62]) Z. Dische, Mikrochemie, **1**, 1 (1929).

15 Minuten bei Zimmertemperatur gehalten wird, die Mannose eine zehnmal, die Galaktose eine fünfmal so starke Farbe als die gleiche Menge Glukose. Bei der Naphtholreaktion I (ein Teil Zuckerlösung — neun Teile H_2SO_4, aus acht Teilen H_2SO_4 konz. + ein Teil H_2O hergestellt, drei Minuten im Wasserbade erhitzt, nach Abkühlen 0.25 cm^3 einer 2proz. Naphthollösung dazugegegeben) zeigt die Galaktose eine um die Hälfte, Mannose eine um 60proz. schwächere Färbung. Bei der Diphenylaminsalzsäurereaktion nach ROTHENFUSSER zeigt die Fruktose nach drei Minuten langem Erhitzen eine 50mal, nach zehn Minuten eine 27mal stärkere Farbe als Glukose. Auch die Ketosen der bekannten Hexosephosphorsäureester zeigen ein ähnliches Verhalten wie die Fruktose. Auf diese Weise lassen sich durch gleichzeitige Anwendung einer entsprechenden Anzahl verschiedener Farbreaktionen, eventuell in Kombination mit einer Reduktionsmethode, mehrere Zucker nebeneinander bestimmen. Man kann sich dazu nicht nur verschiedener Reaktionen, sondern auch ein und derselben Reaktion bedienen, wenn das Erhitzen verschieden lange erfolgt. Denn das Verhältnis der Farbintensität, die man bei verschiedenen Zuckern beobachtet, ändert sich in der Regel je nach Dauer des Erhitzens. Für die Diphenylsalzsäurereaktion wurde es schon oben erwähnt. Aber es ist auch bei anderen Reaktionen zu sehen. So zeigt bei der Indolschwefelsäurereaktion nach Z. DISCHE und H. POPPER die Fruktose nach zwei Minuten langem Erwärmen im siedenden Wasserbade um 300 Proz., nach zehn Minuten nur um 25 Proz. höhere Farbintensität als die gleiche Menge Glukose. Auch die Pentosen können durch entsprechende Wahl der Farbreaktionen neben Hexosen bestimmt werden. Ebenso Aminozucker auf Grund der Tatsache, daß sie zwar reduzieren, aber die oben erwähnten Reaktionen mit aromatischen Körpern nicht geben.

Außer dieser allgemeinen Mikromethode zur Bestimmung mehrerer Zucker nebeneinander gibt es einige, die gewisse spezielle Reaktionen einzelner Zucker oder Zuckergruppen zu ihrer Mikrobestimmung heranziehen.

Zur Mikrobestimmung der Fruktose im Blute hat zuerst S. VAN CREVELD[63]) die JOLLE'sche Reaktion mit Diphenylamin und HCl

[63]) VAN CREVELD, A. neerl de physiol., **13**, 521 (1928).

verwendet. Er erhitzt 1 cm³ der laevulosehaltigen Flüssigkeit mit zehn Tropfen 20proz. alkoholischer Diphenylaminlösung und 1 cm³ 25proz. HCl durch 15 Minuten gleichzeitig mit acht Standardlösungen abgestufter Konzentration, fügt zu jeder Probe 2,5 cm³ Amylalkohol, schüttelt den Farbstoff aus und vergleicht kolorimetrisch. Bei langem Stehen der amylalkoholischen Farbstofflösung bilden sich braune Farbtöne, die störend wirken. Nach W. W. Oppel[63a]) kann man diese Braunfärbung auf ein Minimum reduzieren, wenn man bei der Bestimmung nach van Creveld den farbstoffhaltigen Isoamylalkohol nach dem Abheben von der wässerigen Lösung mit Äthylalkohol auf 30 cm³ verdünnt. Der kolorimetrische Vergleich kann dann in einem Kolorimeter gemacht werden und man kommt mit nur einer Standardlösung aus. Noch 0,01 mg Laevulose kann so bestimmt werden. Nach Z. Dische[62]) kann man das Ausschütteln mit Amylalkohol umgehen, wenn man sich zur Bestimmung des Diphenylaminreagens nach Rothenfusser bedient. Dieses wird durch Vermischen von 100 Eisessig mit 80 HCl konz. und 20 alkoholischer 10proz. Diphenylaminlösung hergestellt. Von dem Reagens kommen zwei Teile auf einen Teil Lösung. Nach drei Minuten Erhitzen zeigt die Laevulose eine 50mal, nach zehn Minuten eine 27mal stärkere Farbe als Glukose. In letzterem Falle kann noch 0,01 mg Laevulose bequem bestimmt werden. Wie die Fruktose, kann nach diesen zwei Verfahren auch die Saccharose bestimmt werden. Auf einem ganz verschiedenen Prinzip basiert die von W. R. Campbell[64]) und M. J. Hanna angegebene Methode zur Bestimmung der Laevulose, der Saccharose und des Inulins. 2 cm³ der Zuckerlösung, die nicht mehr als 2 mg Laevulose enthalten sollen, werden mit 2 cm³ des Folin-Wu-Phosphormolybdänreagens[15]) durch 1,5 Stunden im siedenden Wasserbade erhitzt, dann nach Abkühlen 1 cm³ 50proz. H_2SO_4 hinzugefügt und bis zum Verschwinden der durch Reduktion der Phosphormolybdänsäure entstandenen blauen Farbe mit n/200-$KMnO_4$ titriert. 1 mg Laevulose = 8,7 cm³ n/200-Permanganatlösung. Aldosen geben eine nur ganz schwache Farbe.

Die Mikrobestimmung der Pentosen beruht, wie

[63a]) W. W. Oppel, Biochem. Ztschr., **229**, 85 (1930).

[64]) Campbell und Hanna, Journ. biol. Chem., **69**, 703 (1926).

die Makromethoden, auf der Bildung von Furfurol beim Erhitzen derselben mit Mineralsäuren. G. E. YOUNGBERG[65]) bestimmt 0,1 bis 1 mg Pentose auf folgende Weise: Die pentosenhaltige Flüssigkeit wird in ein Reagenzglas (25×150 mm) gebracht und 3 cm³ 85proz. Phosphorsäure hinzugefügt. Das Reagenzglas ist durch einen Gummistopfen verschlossen, in welchen ein langes, bis zum Boden reichendes Dampfzuleitungsrohr und ein kurzes Dampfableitungsrohr geführt ist. Nachdem man durch Erhitzen bis 125° das Wasser aufgetrieben hat, wird bei etwa 175° unter Dampfdurchleitung solange unter Wasserkühlung destilliert, bis kein Furfurol (erkennbar an der Reaktion mit Anilin) übergeht. Je 5 cm³ des Destillats und einer entsprechend konzentrierten Furfurollösung werden mit je 0,5 cm³ ganz reinen Anilins und 4 cm³ Eisessig versetzt, auf 10 cm³ aufgefüllt und durch 15 Minuten in der Dunkelheit stehengelassen und dann kolorimetriert. Die Menge des bei der Destillation gebildeten Furfurols ergibt mit einem für jede Pentose verschiedenen Faktor multipliziert die Menge der Pentose.

R. A. Mc. CANCE[66]) bestimmt das aus den Pentosen gebildete Furfurol ohne vorherige Destillation. 6 cm³ der zuckerhaltigen Flüssigkeit werden mit 3 cm³ konzentrierter HCl in siedendem Wasserbade durch zwei Stunden erhitzt. Dann wird das Furfurol durch Ausschütteln mit 4 cm³ Benzin extrahiert. 2 cm³ des wasserfreien Extraktes werden mit 4 cm³ einer Lösung von 0,5 g Benzidin in 100 cm³ einer 1:1-Mischung von Alkohol und Eisessig versetzt. Es entwickelt sich eine karmoisinrote Farbe, die gegen einen Standard, der auf dieselbe Weise aus einer Lösung von bekanntem Pentosengehalt gewonnen worden ist, kolorimetriert wird. Verschiedene Pentosen geben natürlich auch hier verschiedene Ausbeute an Furfurol. Aus Hexosen werden verhältnismäßig kleine Mengen Furfurol gebildet, ist aber wenig Pentose neben viel Hexose vorhanden, so müßte diese Quelle berücksichtigt werden.

Für die Bestimmung des Glukosamins neben anderen Zuckern haben in allerletzter Zeit F. ZUCKERKANDL und L. KLEBERMASS-MESSINER[67]) ein Verfahren ausgearbeitet. Es be-

[65]) G. E. YOUNGBERG, Journ. biol. Chem., **73**, 599 (1927).

[66]) Mc. CANCE, Biochem. Journ., **20**, 1111 (1926).

[67]) ZUCKERKANDL und MESSINER-KLEBERMASS, im Druck.

ruht auf der Tatsache, daß acetyliertes Glukosamin mit Ehrlich's Aldehydreagens eine Rotfärbung zeigt, während das Glukosamin selbst es nicht tut. 2 cm³ der glukosaminhaltigen Lösung (etwa 1 mg Glukosamin enthaltend) werden zu trocken eingedampft, der Rückstand mit 1 cm³ 5proz. Natriumäthylatlösung verrieben, 0,3 cm³ Essigsäureanhydrid unter Kühlung hinzugefügt. Dann noch 2 cm³ H_2O, 1 cm³ Alkohol und 0,5 cm³ 30proz. NaOH. Es wird acht Sekunden gekocht, nach Abkühlung 3 cm³ von Ehrlich's Aldehydreagens hinzugefügt und gegen eine Standardlösung von Monoacetylglukosamin nach 15 Minuten kolorimetriert.

Die Bestimmung der physiologischen Hexosephosphorsäureester neben anderen Zuckern basiert entweder auf der Bestimmung der durch sie bewirkten Reduktion in Ferricyankaliumlösung nach vorheriger Abtrennung oder auf der Messung der aus ihnen durch Säurehydrolyse abgespaltenen Phosphorsäure oder, wenn die Natur des vorliegenden Esters bekannt ist, auf Grund der kolorimetrischen Bestimmung der in ihm enthaltenen Ketose.

Das erste Verfahren ist von G. Embden und H. Jost[68]) für die physiologische Hexosemonophosphorsäure des Muskels (Lactacidogen, Embden'scher Ester) ausgearbeitet worden. Der Ester wird durch ammoniakalischen Alkohol in Anwesenheit von Mg-Ionen gefällt (während Glukose in Lösung bleibt) und nach Wiederauflösung des Niederschlages seine Reduktion nach Hagedorn-Jensen bestimmt. 2 cm³ der esterhaltigen mit Magnesia usta gesättigten Lösung werden im Zentrifugenglas mit 5 cm³ absoluten und 5 cm³ eines Gemisches von 1000 absoluten Alkohols und 20 cm³ 25proz. NH_3 und 2 g NH_4Cl versetzt, der Niederschlag zwei Stunden im Eiskasten stehengelassen, abzentrifugiert, in 2 cm³ H_2O aufgeführt, Fällung wiederholt, abzentrifugierter Niederschlag im Vakuum über H_2SO_4 getrocknet, in 2 cm³ n/10-HCl gelöst, mit 4 cm³ n/20-Na_2CO_3 und 5 cm³ H_2O gemischt und die Bestimmung nach Hagedorn-Jensen gemacht. Der als Glukose ermittelte Wert ergibt, mit 1,5 multipliziert, die im Ester vorhandene Hexose.

Nach K. Lohmann[69]) kann man zwei verschiedene Hexoseester.

[68]) Embden und Jost, Ztschr. physiol. Chem., **179**, 31 (1928).

[69]) K. Lohmann, Biochem. Ztschr., **194**, 325 (1928).

z. B. den ROBISON'schen und den HARDEN-YOUNG'schen nebeneinander bestimmen auf Grund der Tatsache, daß sie bei dreistündiger Hydrolyse mit 1 n-Salzsäure P in verschieden starkem Maße abspalten (der erste 22,7proz., der zweite 94proz.). Aus der Menge des durch das Estergemisch abgespaltenen sowie des nach Veraschung mikrochemisch bestimmten Phosphors kann man die Menge jedes einzelnen Bestandteiles errechnen.

Nach H. EULER und K. MYRBÄCK[69a]) kann man die Diphosphorsäure neben den Monophosphorsäureestern der Zucker bestimmen, indem man sich des zuerst von NEUBERG zur Trennung dieser Verbindung angegebenen Verfahrens bedient. Dieses besteht in der Fällung der Diphosphorsäureester mit Ba-Acetat in der Hitze (nach vorheriger Entfernung der anorganischen Phosphate mit Mg-Mixtur) und Bestimmung des Phosphors im Niederschlag. Die Monophosphatsester werden dann aus dem Filtrat mit Alkohol gefällt.

Des Interesses wegen, dem neuestens das Verhalten des Dioxyacetons im tierischen Organismus begegnet, wurden in den letzten Jahren einige Methoden zur Bestimmung dieser Triose in Gegenwart von Glukose ausgearbeitet.

W. R. CAMPBELL[70]) benützt die Eigenschaft des Dioxyacetons, die Phosphormolybdänsäure in der Wärme 180mal stärker als Glukose zu reduzieren, als Prinzip der Bestimmung. 2 cm³ der das Dioxyaceton enthaltenden Flüssigkeit mit 0,1 bis 0,5 mg der Triose werden mit 2 cm³ des Phosphormolybdänsäurereagens nach FOLIN-WU[15]) durch 15 Minuten in siedendem Wasserbade erhitzt und nach dem Abkühlen die blaue Farbe mit derjenigen eines ebenso behandelten Standards, der nicht weniger als um ein Drittel und nicht mehr als um die Hälfte konzentrierter sein darf, kolorimetrisch verglichen oder mit n/100-$KMnO_4$ bis zum Verschwinden der blauen Farbe titriert, wobei 1,14 cm³ der Titrierflüssigkeit 0,2 mg Dioxyaceton entspricht.

F. SILBERSTEIN und F. RAPPAPORT[71]) bestimmen 0,02 mg Dioxyaceton auf Grund der Kaltreduktion, die es in alkalischen Kalium-Ferricyanidlösungen bewirkt. Sie gehen genau so vor wie bei der Zuckerbestimmung nach HAGEDORN-JENSEN. Das Reaktions-

[69a]) EULER und MYRBÄCK, Liebigs Ann., **464**, 56 (1928).

[70]) W. R. CAMPBELL, Journ. biol. Chem., **67**, 59 (1926).

[71]) F. SILBERSTEIN und F. RAPAPORT, Biochem Ztschr., **194**, 105 (1928).

gemisch wird 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen, in welcher Zeit die Reduktion durch das Dioxyaceton beendet ist, während Glukose unwirksam ist. 1 cm^3 n/200-Thiosulfatlösung entspricht 0,09 mg Dioxyaceton.

Für die Bestimmung im Blute haben W. O. Kermack, Ch. G. Lambie und R. H. Slater[72]) eine Bestimmung auf Grund einer Reaktion mit Phenol und Schwefelsäure ausgearbeitet, die indessen wenig spezifisch zu sein scheint.

Das Glykogen wird in der Regel nach Abtrennung durch alkoholische Fällung und Säurehydrolyse wie die Glukose bestimmt. Es sind aber auch einige Versuche zur direkten Bestimmung gemacht worden.

Eine Bestimmung in sehr kleinen Mengen mit Hilfe der Jodreaktion hat schon P. Jensen[73]) angegeben.

S. E. de Jongh und J. Planelles[74]) schätzen das Glykogen noch in einer Konzentration von $^1/_{128000}$ mit Hilfe der Trübung, die in der wässerigen Phase entsteht, wenn man 1 Teil Glykogenlösung mit 1 Teil Alkohol und 5 Teilen Äther schüttelt. Für die im Blute wird dasselbe mit Trichloressigsäure enteiweißt. P. Rona und C. v. Eweyk[75]) bestimmen nephelometrisch die Trübung wässeriger Glykogenlösungen, die der Konzentration streng proportional ist.

II. Die Bestimmung der Kohlehydrate in den Bestandteilen des tierischen Körpers.

Bei der Anwendung der verschiedenen Methoden zur Bestimmung der Kohlehydrate auf die Bestandteile des tierischen Körpers ergeben sich, wie oben schon ausgeführt worden ist, besondere Verhältnisse, einerseits infolge des Vorhandenseins verschiedener Kohlehydrate nebeneinander, anderseits anderer Körper, die aber manche zur Bestimmung verwendeten Reaktionen mit den Kohlehydraten gemeinsam haben. Beide Umstände erfordern eine kurze Erörterung.

[72]) Kermack, Lambie, Slaten, Biochem. Journ., **20**, 486 (1926).
[73]) P. Jensen, Ztschr. physiol. Chem., **35**, 525 (1902).
[74]) De Jongh und Planelles, Biochem. Ztschr., **154**, 167 (1924).
[75]) P. Rona und Eweyk, Biochem. Ztschr., **149**, 174 (1924).

A. Bestimmung der Kohlehydrate im Blute.

1. Die Kohlehydrate des Blutes.

Man unterscheidet zunächst im Blute freien und gebundenen Zucker. Der erstere geht bei der Enteiweißung des Blutes in Lösung, der letztere geht in den Niederschlag, da er ganz oder zum größten Teile an die Eiweißkörper fest gebunden ist. Es wird heute allgemein angenommen, daß die Hauptmasse des im Blute befindlichen freien Zuckers aus dem gewöhnlichen Traubenzucker besteht. Alle Versuche, nachzuweisen, daß wir es im sogenannten Blutzucker nicht mit der gewöhnlichen Glukose, sondern mit einer aktiven Form derselben zu tun haben, müssen vorläufig als gescheitert angesehen werden. Dagegen kommen im Blute eine ganze Reihe von Zuckern in freier Form in kleinen Mengen vor. So Fruktose nach Genuß derselben oder sie enthaltender polymerer Zucker sowie bei Laevulosurie, Galaktose nach Einnahme großer Mengen Laktose. J. W. Best[76]) hat Laktose konstant im Rinderblute gefunden. Kleine Mengen Glykogen, das aus den weißen Blutzellen stammt, sind immer vorhanden. H. W. Godwin und R. Robison[77]) haben aus dem Pferdeblute zwei Phosphorsäurezuckerester dargestellt, von denen der eine wasserlösliches, alkoholunlösliches, der andere ein im Wasser ganz unlösliches Bariumsalz gibt. Der eine dürfte ein Diphosphorsäureester, der andere ein Monophosphorsäureester sein. Jackson und W. S. Hoffmann[77a]) haben ein pentosehaltiges Nukleotid aus roten Blutkörperchen isoliert. G. Fontès und L. Thivolle[78]) haben gezeigt, daß, wenn man das Blut einmal nach Folin-Wu mit Wolframsäure, das andere Mal mit Mercurinitrat nach Patain enteiweißt und in den eiweißfreien Filtraten die Reduktion nach ihrer Methode bestimmt, man im ersteren Falle einen höheren Wert bekommt als im zweiten. Diese Differenz verschwindet nach Vergärung. Sie beziehen sie aus diesem Grunde auf ein Kohlehydrat (Zucker X). Referent hat die Befunde von G. Fontès und L. Thivolle an menschlichem und Pferdeblut bestätigt gefunden. Es ist aber sehr zweifelhaft, ob die

[76]) J. W. Best, Arch. neerl. de physiol., **3**, 222 (1919).
[77]) Godwin und Robison, Biochem. Journ., **18**, 1161 (1924).
[77a]) W. S. Hoffmann, Journ. biol. Chem., **63**, 675 (1925).
[78]) Fontès und Thivolle, Bull. Soc. chim. biol., **9**, 423 (1927).

Differenz in der Reduktionskraft der Wolframat- und $Hg(NO_3)_2$-Blutfiltrate überhaupt auf einen Zucker zu beziehen ist. Der gebundene Zucker des Blutes ist nach Dische, Rimington, Bierry und Levene ein polymerer Zucker, der aus Mannose und Glukosamin besteht. Ob dagegen die nach milder Säurehydrolyse des Blutes nach Condorelli ohne gleichzeitige Aminostickstoffvermehrung in Lösung gehenden reduzierenden Substanzen Kohlehydrate sind, erscheint sehr fraglich. Ebenso ob die nach Säurehydrolyse verschiedener nach vorheriger Enteiweißung erhaltener Blutfiltrate auftretende Vermehrung der Reduktionskraft auf Freiwerden reduzierender Zuckergruppen zurückzuführen ist. Wie man sieht, haben wir es im Blute mit einem Gemenge verschiedener Zucker zu tun, von denen wir nur einen Teil einzeln nach Abtrennung (Glykogen, gebundener Zucker, „Zucker X" von Fontès und Thivolle) oder Anwendung spezifischer Reagenzien (Fruktose) bestimmen können. Der Blutzucker der physiologischen und medizinischen Literatur ist aber chemisch nicht eindeutig definiert, sondern ein Sammelbegriff für ein Gemenge von verschiedenen Zuckern (von denen allerdings der Traubenzucker quantitativ weitaus die größte Rolle spielt) und auch „Nicht-Zuckern", ein Sammelbegriff, dessen Inhalt je nach der zur Blutzuckerbestimmung angewendeten Methode wechselt.

2a. Bestimmung des freien Blutzuckers.

In der Literatur wird zwischen dem unmittelbar reduzierenden Blutzucker und dem erst nach Säurehydrolyse der enteiweißten Blutfiltrate reduzierenden Blutzucker unterschieden. Die Natur des letzteren ist gänzlich unbekannt. Seine Menge hängt sowohl von der Art der Enteiweißung wie der Stärke der Hdyrolyse ab. So soll der erst nach Hydrolyse reduzierende freie Blutzucker bei Enteiweißung mit Quecksilbersalzen in den Niederschlag gehen[79]). P. J. Cammidge[80]) hält diesen nach Hydrolyse reduzierenden Körper für ein Dextrin und schreibt ihm eine gewisse Bedeutung im Kohlehydratstoffwechsel zu. Die Bestimmung dieses „Zuckers" wird nach Hydro-

[79]) H. Bierry, Cpt. r. de la ac. de Sc., **158**, 278 (1914), Gutmann und Adler, Biochem. Ztschr., **83**, 11 (1917).

[80]) Cammidge, Forsyth und Howard Lancet, **II**., 33 (1920).

lyse und Neutralisation im übrigen genau so ausgeführt wie diejenige des „unmittelbar reduzierenden". M. EVERETT[81]) macht darauf aufmerksam, daß bei der Bestimmung nach FOLIN-WU die Hydrolyse mit H_2SO_4 und nicht HCl bewirkt werden soll.

Von allen Methoden haben die auf Reduktion basierenden weitaus die größte Verbreitung gefunden. Neben den reduzierenden Zuckern hat man im normalen, besonders aber im Blute der Nieren- und Kreislaufkranken reduzierende Substanzen gefunden, die nach Gärung und Glykolyse nicht verschwinden. Die größte Rolle spielen, soweit man das normale Blut in Betracht zieht, das Glutathion in der reduzierenden Form und das Ergothionein (Thiohistidinbetain); eine geringere Rolle das Kreatinin und die Harnsäure. Einerseits ist nun die Reduktionskraft dieser Körper den einzelnen zur Blutzuckerbestimmung angewendeten Reagenzien gegenüber sehr verschieden. So reduzierten nach B. SJOLLEMA und A. EMMERIE[82]) 0,1proz. Lösungen von Glutathion bei der HAGEDORN-JENSEN-Methode wie 0,053proz. Glukoselösung, während gleichkonzentrierte Lösungen von Ergothionein (Thiasin) wie 0,077proz. von Kreatinin, wie 0,059proz. Natriumurat, wie 0,045proz. Lösungen von Glukose. Dagegen werden einige Cuprisalzreagenzien, wie sie für Zuckerbestimmungen benützt werden, von Glutathion nicht reduziert. Anderseits hängt die Menge der die Restreduktion bewirkenden Substanzen in den nach Enteiweißung erhaltenen Filtraten in starkem Maße davon ab, auf welche Weise man die Enteiweißung durchgeführt hat. So geht bei der Fällung mit Phosphorwolframsäure, Mercuri- und Zinksalzen das Glutathion in den Niederschlag, nicht aber bei Fällung mit Trichloressigsäure oder Wolframsäure. Aber neben den anderen genannten scheinen für die Frage des „wahren Blutzuckers" noch zwei andere Umstände eine Rolle zu spielen.

Bei den meisten titrimetrischen Reduktionsmethoden wird zum Schluß das Reaktionsgemenge mit Kaliumpermanganat oder Jod titriert. Es ist klar (worauf zuerst SOMOGYI hinwies), daß auch solche Substanzen, die an und für sich die zur Bestimmung verwendeten Reagenzien nicht reduzieren, auf die Menge der ver-

[81]) EVERETT, SHOEMAKER und SHEPPARD, Journ. biol. Chem., **74**, 739 (1927).
[82]) SJOLLEMA und EMMERLE, Biochem. Ztschr., **204**, 275 (1929).

brauchten Titrationsflüssigkeit Einfluß nehmen, falls sie in der Kälte schon Permanganat oder Jod reduzieren.

Endlich scheinen im Blute Substanzen vorzukommen, die, obwohl sie selbst nicht reduzieren, die Reduktion des Zuckers teils im Sinne einer Erhöhung, teils Erniedrigung beeinflussen. S. R. BENEDICT[82a]) hat zuerst ein Kupfernitratreagens angegeben, welches eine viel höhere Reduktion für den Zucker im Blute als in reiner Lösung aufweist. Etwas ähnliches hat der Referent bei Verwendung der Methode FONTÈS-THIVOLLE gesehen und SOMOGYI bei der zweiten Kupferreduktionsmethode von FOLIN. Im letzteren Falle ist dazu die zu beobachtende prozentuelle Erniedrigung der Reduktionskraft der Glukose nach Zusatz zum Blute von der Konzentration des zugesetzten Zuckers abhängig.

Angesichts all dieser die Frage des Blutzuckers (wenn auch mehr in theoretischer als praktischer Hinsicht) verwirrenden Umstände ist es leicht erklärlich, daß man nach verschiedenen Methoden verschiedene Werte sowohl für den Blutzucker als auch für die Restreduktion erhalten hat. So wurden in den letzten Jahren zahlreiche Versuche unternommen, um die obenerwähnten Schwierigkeiten bei der Blutzuckerbestimmung zu überwinden. Diese Versuche haben sich nach zwei Richtungen erstreckt. Man war einerseits bemüht, solche Enteiweißungsverfahren anzuwenden, bei denen möglichst alle reduzierenden Nichtkohlehydrate mit dem Eiweiß ausfallen, anderseits Reagenzien zu finden, die möglichst nur mit Zuckern agieren und mit ihrer Hilfe den Zucker im enteiweißten Blute zu bestimmen.

Nach beiden Richtungen hin sind in den letzten Jahren erhebliche Fortschritte gemacht worden, so daß die Aufgabe, in kleinen Blutmengen den wahren Zucker auf raschem und einfachem Wege zu bestimmen, als gelöst angesehen werden kann.

Es sollen hier zunächst die einzelnen für die Blutzuckerbestimmung verwendeten Enteiweißungsverfahren und dann die Anwendung verschiedener Zuckerbestimmungsmethoden auf die so erhaltenen eiweißfreien Blutfiltrate angegeben werden.

[82a]) S. R. BENEDICT, Journ. biol. Chem., **76**, 459 (1928).

2b. Die Enteiweißungsmethoden.

Enteiweißung mit kolloidalem Eisenhydroxyd.

Dieses von MICHAELIS eingeführte Verfahren wurde wohl am frühesten für die Bestimmung des Blutzuckers angewendet. L. MICHAELIS[1]) vermischt 1 cm³ Blut mit 11 cm³ H_2O, erhitzt zum Aufkochen und fügt tropfenweise 7,5 cm³ von Liquor ferri dialysati und 0,5 cm³ 5proz. $MgSO_4$-Lösung. MAC LEAN[6]) mischt 0,2 cm³ Blut mit 28,8 cm³ einer sauren Na_2SO_4-Lösung, kocht auf, gibt 1 cm³ der kol. Eisenlösung dazu, kühlt ab und filtriert. RONA und FABISCH verdünnen 1 cm³ Blut mit 5 cm³ dest. H_2O und geben 3,9 cm³ Eisenlösung plus 0,1 cm³ ges. $MgSO_4$ dazu, worauf zentrifugiert und dann noch durch Glaswolle filtriert wird.

Die Trichloressigsäure wurde als Enteiweißungsmittel nur von M. JONESCU[29]) für seine Ferricyanidmethode und von G. DENIGÈS[57]) für seine Phenylosazonmethode verwendet. Ein Teil Blut wird mit gleichem Volumen 20proz. Trichloressigsäure versetzt, filtriert oder abzentrifugiert. Der Vorteil dieser Enteiweißung liegt in der geringen Endverdünnung des Blutfiltrats, der Nachteil darin, daß die Restreduktion sehr hohe Werte erreicht und daß die Kupferreduktionsverfahren nicht angewendet werden können, da die Trichloressigsäure nach Neutralisation die Reduktion der Kupfersalze durch Zucker vollständig aufhebt.

Die Pikrinsäure benützen zur Enteiweißung St. R. BENEDICT und E. OSTERBERG[38]), die Phosphorwolframsäure als Enteiweißungsmittel hat für Mikrozuckerbestimmung im Blute nur C. TERVAERT[83]) angewendet. Er kombiniert diese Enteiweißung mit der Zuckerbestimmung nach SHAFFER-HARTMAN, wodurch die Entfernung der überschüssigen Phosphorwolframsäure vermieden werden kann.

Die Eiweißfällung mit Wolframsäure, von O. FOLIN und H. WU[15]) eingeführt, hat in Amerika die größte Verbreitung gefunden. Nach der ursprünglichen Vorschrift wurde ein Teil Blut mit sieben Teilen Wasser lackfarben gemacht und dann je 1 Teil 10proz. Lösung von Na_2WoO_4 und $^2/_3$ n-H_2SO_4 hinzugefügt, einige Minuten stehengelassen und filtriert. Das Natriumwolframat darf nicht zu stark alkalisch reagieren (10 cm³ der 10proz.

[83]) C. TERVAERT, Rona's Ber., **10**, 79 (1921).

Lösung dürfen nicht mehr als 0,4 cm³ $^1/_{10}$ n-HCl bis zum Farbumschlag des Phenolnaphthaleins verbrauchen), das Blut darf nicht mehr als etwa 0,2 Proz. NaF oder Citrat enthalten. Später hat Folin für ganz kleine Blutmengen (0,1 cm³) empfohlen, das Blut mit der hundertfachen Menge eines Wolframsäurereagens, das durch Auffüllen von je 20 cm³ 10proz. Na_2WoO_4-Lösung und $^2/_3$ n-H_2SO_4 auf 1 Liter hergestellt wird und unter bestimmten Kautelen eine Zeitlang haltbar ist.

Die Wolframsäurefällung läßt nach Folin-Wu alle Nichteiweißkörper des Blutes in Lösung (nach M. Everett wird Glykogen teilweise gefällt). Aus diesem Grunde waren die bei Anwendung der Reduktionsmethoden auf diese Filtrate erhaltenen Blutzuckerwerte zu hoch. In der letzten Zeit sind deshalb zwei Modifikationen dieses Enteiweißungsverfahrens angegeben worden, denen der hier erwähnte Übelstand nicht in so starkem Maße anhaftet. O. Folin[84]) fällt das Blut in schwach hypertonischer Lösung und nicht hämolysiertem Zustand wie folgt: 1 Teil Blut wird zu 8 Teilen einer Lösung von 15 g Na_2SO_4 (wasserfrei) und 6 g Na_2WoO_4 im Liter zugesetzt, fünf Minuten stehengelassen, dann 1 Teil n/3-H_2SO_4 zugesetzt. Dann wird zentrifugiert (nicht filtriert). Unter diesen Umständen geht ein Großteil der die Restreduktion bewirkenden in den roten Blutkörperchen enthaltenen Stoffe nicht in Lösung. Bei der Zuckerbestimmung nach Folin-Wu erhält man um 10 bis 15 mgproz. niedrigeren Wert als bei Enteiweißung nach dem ursprünglichen Folin-Wu-Verfahren. F. K. Herbert und M. C. Bourne[85]) haben nachgewiesen, daß bei diesem Verfahren das Glutathion der roten Blutkörperchen nicht in Lösung geht. R. B. Gibson[86]) erzielt denselben Effekt, indem er die Wolframsäurefällung mit stärker konzentriertem Wolframat und H_2SO_4-Lösungen ausführt. 0,2 cm³ Blut werden mit 4,3 cm³ 1,25proz. Na_2WoO_4-Lösung und 0,5 cm³ 2 vol. proz. H_2SO_4 gemischt und zentrifugiert.

Enteiweißung mit Schwermetallen und Hydroxyden. Diese Art der Enteiweißung hat gegenüber den meisten früher erwähnten den Vorteil, daß neben Eiweiß die Hauptmasse

[84]) O. Folin, Journ. biol. Chem., **86**, 173 (1929).
[85]) Herbert und Bourne, Biochem. Journ., **24**, 299 (1930).
[86]) R. B. Gibson, Proc. Soc. exper. Biol. u. Med., **27**, 480 (1930).

der anderen reduzierenden nichtzuckerartigen Substanzen gefällt und so die Restreduktion stark erniedrigt wird. FONTÈS und THIVOLLE weisen darauf hin, daß die von ihnen als „sucre X" bezeichnete und als Zucker aufgefaßte reduzierende und von Hefe aufgenommene Substanz durch diese Reagenzien ebenfalls gefällt wird. Sie raten, die Zuckerbestimmung in auf diese Art gewonnenen Blutfiltraten durch eine zweite kontrollierende Bestimmung an Wolframsäurefiltraten zu ergänzen.

Enteiweißung mit Quecksilbersalzen. Die Enteiweißung nach SCHENCK: 1 Teil Blut plus 1 Teil 4proz. HCl plus 2 Teile tropfenweise zugesetzter 5proz. Lösung von $HgCl_2$. Entfernung überschüssiger Quecksilbersalze durch H_2S kommt nur dort in Frage, wo auf nicht zu starke Verdünnung des Blutes Wert gelegt wird, z. B. Fruktosebestimmung nach VAN CREVELD[63]).

Die Enteiweißung nach PATAIN-DUFAUT. Diese Art der Enteiweißung ist zuerst für Mikro-Blutzuckerbestimmungen von BIERRY und MOQUET[87]) angewendet worden. Sie verdünnen 1 Teil Blut mit 4 Teilen H_2O und fügen tropfenweise 1 Teil Mercurinitratlösung (400 g des Salzes mit 700 cm^3 H_2O und der eben nötigen Menge Salpetersäure, bei 40° gelöst, gekühlt, mit NaOH bis zum Erscheinen eines gelben Niederschlages versetzt, auf 1000 cm^3 aufgefüllt und filtriert) und dann solange 1 n-Natronlauge, bis Bromkresolpurpurpapier violett gefärbt wird ($p_H = 6{,}5$). Hierzu wird etwa 2.8 bis 3 cm^3 Lauge benötigt. Man ergänzt mit Wasser auf das 10 bis 12.5fache des Blutvolumens und filtriert. Das Filtrat wird 1½ Stunden mit Kupferspänen stehengelassen, um Quecksilber völlig zu entfernen. Bei dieser Art der Enteiweißung werden Kreatin, Kreatinin, Harnsäure, Glutathion, Ergothionein und Polyphenole vollständig gefällt. K. BEN HARNED[88]) führt die PATAIN'sche Fällung etwas anders aus. Er verdünnt einen Teil Blut mit 8 Teilen Wasser, fügt einen Teil Mercurinitratlösung bei (348 g Hg $[NO_3]_2$ in 900 cm^3 H_2O mit HNO_3 konz., tropfenweise bis zu völliger Lösung versetzt und auf 1000 cm^3 aufgefüllt), filtriert, gibt festes $NaHCO_3$ bis zu schwach alkalischer Reaktion gegen Lackmus, filtriert, setzt festes, gepulvertes $KHSO_4$ bis zu

[87]) H. BIERRY und MOQUET, C. r. de la Soc. biol., **90**, 1316 (1928).
[88]) BEN HARNED, Journ. biol. Chem., **65**, 555 (1925).

schwach saurer Reaktion gegen Tropaeolin 00, filtriert, leitet H_2S ein und vertreibt letzteres durch einen Luftstrom. Die Einstellung mit $KHSO_4$ auf saure Reaktion gegen Tropaeolin 00 ist nötig, da sonst bei der H_2S-Durchleitung Substanzen entstehen, die ein Ausblassen der Farbe bei der nachherigen Zuckerbestimmung nach Folin-Wu bewirken.

Eine Vereinfachung der Eiweißfällung mit dem Patain'schen Reagens haben G. Fontès und L. Thivolle[89]) sowie A. Baudouin und L. Lewin[21]) angegeben.

Die ersteren bereiten das Reagens so wie Bierry und Moquet, nur neutralisieren sie die überschüssige Salpetersäure nicht mit NaOH, sondern mit KOH. Auf einen Teil Blut geben sie fünf Teile H_2O und einen Teil des Reagens, fügen tropfenweise 1 n-Kalilauge bis Farbumschlag gegen Phenolphathalein, setzen jetzt tropfenweise 2proz. Lösung von kristallisierter Weinsäure hinzu, bis die Rasofärbung verschwindet, und dann noch einige Tropfen mehr, füllen auf das zehnfache Volumen des Blutes auf und filtrieren. Das Filtrat hat jetzt ein p_H von etwa 6,5. Dieses p_H ist nötig, um die geringen Quecksilbermengen, die noch in Lösung sind, durch Behandlung mit Kupfer restlos entfernen zu können. Der Vorteil dieses Verfahrens liegt darin, daß weder ein Zuviel von KOH noch von Weinsäure die Enteiweißung und die nachherige Entfernung des Quecksilbers irgendwie beeinflussen, da die sich bildenden weinsauren Salze des Kaliums und Quecksilbers schwer löslich sind und ausfallen. A. Baudouin und L. Lewin[21]) vermischen 1 cm^3 Blut mit 4 oder 0,2 mit 1 cm^3 H_2O. Nachdem das Blut lackfarben geworden ist, fügen sie tropfenweise 1 cm^3, bezw. je 0,2 cm^3 der Mercurinitratlösung und einer 1 n-NaOH zu, schütteln gut um und füllen im ersteren Falle auf 30 cm^3, im zweiten auf 12 cm^3 auf. Ihr Mercurinitratreagens wird durch Verreiben von 145 g HgO in 105 cm^3 konz. HNO_3 (D = 1,383), bis sich fast alles gelöst hat, bereitet. Nun fügt man 100 cm^3 H_2O hinzu, kocht auf, bis alles restlos gelöst ist, kühlt ab, gibt 35 cm^3 1 n-NaOH dazu und füllt auf einen Liter auf. Wenn man an dem Filtrat die Zuckerbestimmung nach Baudouin und Lewin ausführt, entfällt die Entquecksilberung. In diesem Falle muß aber die zur Herstellung des

[89]) Fontès und Thivolle, Bull. Soc. chim. biol., **10**, 581 (1928).

Reagens und auch bei der Eiweißfällung benützte Natronlauge aus NaOH pro analysi aus Natrium hergestellt sein. Das resultierende Filtrat reagiert neutral.

Da bei der Enteiweißung mit Quecksilbernitrat die sehr bequeme Entfernung des Quecksilbers durch Zinkpulver infolge des Entstehens von Nitriten unmöglich ist, durch H_2S und metall. Kupfer aber besondere Vorsichtsmaßregeln erforderlich sind, hat W. LAPA[90]) das zuerst von NEUBERG empfohlene Quecksilberacetat angewendet. Man vermischt entweder ein Teil Plasma oder Blut mit einem Teil 20proz. Lösung von Mercuriacetat oder vier Teilen Plasma, oder Blut mit einem Teil des Reagens und setzt festes $NaHCO_3$ im Überschuß zu. Nachdem die Gasentwicklung nachgelassen hat, wird filtriert. Im zweiten Fall ist die Quecksilbermenge im Filtrat so gering, daß man die Bestimmung nach HAGEDORN-JENSEN ohne Entfernung des Quecksilbers vornehmen kann. Im ersteren Falle muß dies durch Abscheidung mit Zinkpulver (drei bis vier Stunden stehenlassen) geschehen. In den nach diesem Verfahren erhaltenen Blutfiltraten von Nichtnierenkranken ist die Restreduktion minimal (entsprechend 0,004 bis 0,006proz. Glukose).

Die Enteiweißung mit Mercurisulfat, die ebenfalls die Nachteile der PATAIN'schen nicht besitzt, ist von E. S. WEST, V. PATERSON und F. H. SHARLES[91]) für die Blutzuckeranalyse herangezogen worden ist. Ein Teil Blut wird mit zehn Teilen H_2O lackfarben gemacht, ein Teil des Mercurisulfatreagens (30 g $HgSO_4$ in 100 cm^3 10proz. H_2SO_4 gelöst und filtriert) tropfenweise dazugesetzt, stark umgeschüttelt und dann auf einen Teil Blut 2 g pulverisierten $BaCO_3$ dazugegeben und solange umgerührt, bis die Reaktion gegen Lackmus neutral wird. Nun wird filtriert oder zentrifugiert, zu etwa 20 cm^3 Filtrat ein Tropfen gesättigter Na_2SO_4-Lösung zur Entfernung des Bariums hinzugefügt, dann wird mit einer Messerspitze Zinkpulver durch einige Sekunden umgeschüttelt, um die sehr geringen Mengen von Quecksilber zu entfernen, und wiederum filtriert. Die so hergestellten Blutfiltrate normaler Individuen enthalten keinen Rest Stickstoff.

[90]) LAPA, Bull. Soc. chim. biol., **9**, 310 (1927).

[91]) WEST, PATERSON und SHARLES, Journ. biol. Chem., **82**, 137 (1929).

Alle Enteiweißungsmethoden mit Quecksilbersalzen besitzen den Nachteil, daß meistens vor der eigentlichen Zuckerbestimmung die Reste des Fällungsmittels beseitigt werden müssen. Diesen Nachteil vermeiden die Verfahren, bei denen Zinkhydroxyd zur Enteiweißung verwendet wird. Dabei ist dieses Verfahren in der von M. SOMOGYI[92]) gegebenen Form, was die Beseitigung der die Restreduktion verursachenden Blutbestandteile betrifft, ebenso wirksam wie die besten Enteiweißungsmethoden durch Quecksilbersalze.

Die Enteiweißung nach M. SOMOGYI[92]) wird wie folgt ausgeführt: Es wird entweder 0,1 cm³ Blut mit 5,9 cm³ H_2O vermischt und dann 1 cm³ einer 1,8proz. Lösung von $ZnSO_4$ kristallisiert und 1 cm³ $^1/_{10}$-n. NaOH dazugegeben, oder 0,2 cm³ Blut zu 6,8 cm³ einer Lösung $ZnSO_4$ zugesetzt (die durch Verdünnen von 100 cm³ einer Lösung von 12,5 g $ZnSO_4$ in 1000 $^1/_{32}$-n. H_2SO_4 mit 325 H_2O hergestellt wird) und dann 1 cm³ 0,15 n-NaOH hinzugefügt, woran sich die Filtration anschließt. Bei dieser Art von Enteiweißung bleibt in normalem Blut zirka 12 bis 14 mgproz. Rest an Stickstoff in Lösung, der fast zur Gänze von Harnstoff und Kreatin herrührt.

Weniger wirksam in bezug auf die Beseitigung der Restreduktion als diese Zinkeiweißfällung auf kaltem Wege ist die von H. C. HAGEDORN und B. N. JENSEN[26]) für ihre Blutzuckerbestimmung gewählte Enteiweißung mit Zinkhydroxyd in der Hitze. Sie ist aber heute in Europa am meisten verbreitet. Dieses für Mikrozwecke sehr sorgfältig ausgearbeitete Verfahren gestaltet sich folgendermaßen: 0,1 cm³ Blut wird in 5 cm³ einer 0,45proz. Zinksulfatlösung ausgeblasen und 1 cm³ n-$^1/_{10}$-NaOH hinzugefügt. Dann wird durch drei Minuten im siedenden Wasserbade erhitzt. Nun wird durch einen vorher zweimal mit heißem Wasser gewaschenen Wattebausch filtriert und mit je 3 cm³ Wasser nachgewaschen. Die NaOH- und Zinksulfatlösung sollen nach acht Tagen aus Stammlösungen (2 n-NaOH und 45proz. Zinksulfatlösung frisch hergestellt werden, da ihr Leerwert bei der Jodtitration mit der Zeit ansteigt. O. FOLIN[93]) macht darauf auf-

[92]) M. SOMOGYI, Journ. biol. Chem., **86**, 655 (1930).

[93]) O. FOLIN und H. MALMROS, Journ. biol. Chem., **83**, 121 (1929).

merksam, daß die wechselnde Größe des zur Filtration benützten Wattebausches gewisse (im übrigen kleine) Fehler bedingen kann.

3. Anwendung verschiedener Zuckerbestimmungsmethoden auf eiweißfreie Blutfiltrate.

Es ist nach dem oben Gesagten klar, daß, je nach dem gewählten Enteiweißungsverfahren, sehr verschiedene Werte für den Blutzucker erhalten werden. Dies gilt insbesondere bei Anwendung von Reduktionsmethoden. Aber auch gewisse Gärungsmethoden, z. B. diejenige von P. Rona und W. A. Nicolai[53]), dürften neben dem eigentlichen Zucker noch andere in Enteiweißungsfiltraten vorkommende Bestandteile mitbestimmen. Was aber die Methoden betrifft, die auf spezifischer Farbreaktion der Kohlehydrate beruhen, so muß man bedenken, daß gewisse Kohlehydrate des Blutes, die von diesen Verfahren miterfaßt werden, von Quecksilbersalzen und $Zn(OH)_2$ gefällt werden. Es handelt sich dabei um ein pentosenhaltiges Nukleotid und wahrscheinlich eine Hexose, die in roten Blutkörperchen enthalten sind. Ebenso um den „Sucre X" von Fontès und Thivolle, dessen Kohlehydratnatur allerdings noch zweifelhaft ist. Diese letztere Tatsache ist einer der Gründe, warum gewisse Enteiweißungsverfahren, wie z. B. von Folin-Wu, noch heute in allgemeiner Verwendung bei Blutzuckerbestimmungsmethoden stehen, obwohl sie im Gegensatz zu den Methoden, die sich der Quecksilbersalze und des Zinkhydroxydes bedienen, zahlreiche Substanzen in Lösung lassen, die die Genauigkeit der Blutzuckerbestimmung beeinträchtigen. Ein noch wichtigerer Grund für die Beliebtheit einiger heute eigentlich schon überholter Enteiweißungsverfahren ist ihre große Einfachheit, die sie, falls es sich um klinische Untersuchungen handelt, zu Methoden der Wahl stempelt.

Ebenso wie von der Art der Enteiweißung, hängt aber der Blutzuckerwert von dem zur Bestimmung des Zuckers angewendeten analytischen Verfahren ab. Denn die verschiedenen, bei den einzelnen Reduktionsmethoden zur Verwendung kommenden Reagenzien sind in sehr verschiedenem Grade gegen die die Restreduktion bedingenden Substanzen empfindlich. Gerade in den letzten Jahren hat man sich nun bemüht, für Zucker spezifischere Reagenzien zur Bestimmung des Blutzuckers anzuwenden.

a) Reduktionsmethoden.

1. Kupferreduktionsmethoden.

L. Michaelis[1]), J. Greiner[2]) und H. Mac Lean[6]) haben bei der Anwendung ihrer Bestimmungsverfahren auf das Blut mit der Enteiweißung durch kolloidales Eisenhydroxyd kombiniert. Diese Verfahren haben eine zu große Fehlerbreite und werden heute für Mikrozwecke fast gar nicht mehr benützt.

Die J. Bang'sche Methode[7]) dagegen erfreut sich heute noch bei Klinikern großer Beliebtheit. Das Blut wird dabei nur mehr selten auf der Torsionswaage abgewogen, sondern es wird in der Regel mit Hilfe der sogenannten Weiß'schen Röhrchen 0,115 cm^3 Blut aus der Fingerbeere aufgesogen, einige Kubikzentimeter der Bang'schen Enteiweißungsflüssigkeit nachgesogen, dann mit derselben bis zur Marke bei 15 cm^3 aufgefüllt und filtriert, 13 cm^3 des Filtrats zur Zuckerbestimmung nach Bang benützt. Der Vorteil dieses Verfahrens ist eben die außerordentliche Einfachheit der Enteiweißung, die ohne genaue Abmessung der Enteiweißungsflüssigkeit am Krankenbette ausgeführt werden kann. Denn sonst gibt das Bang'sche Verfahren in dieser Ausführung viel zu hohe Werte, was darauf zurückzuführen ist, daß das Uranylacetat sehr viele Restreduktion bedingende Substanzen in Lösung gehen läßt. M. V. Lapa[90]) hat gezeigt, daß wenn man statt mit Uranylacetat mit Quecksilberacetat enteiweißt und dann den Zucker nach Bang im Filtrat bestimmt, man fast um die Hälfte kleinere Werte bekommt.

Die Methode von Shaffer-Hartmann[8]) hat in Amerika für Blutzuckerbestimmungen, ungefähr um dieselbe Zeit wie in Europa die Bang'sche, die größte Verbreitung gefunden. Die Autoren haben die Bestimmungen an Folin-Wu-Filtraten ausgeführt, wobei sie 1 cm^3 Blut für eine Bestimmung nahmen. Cohen Tervaert[83]) führt die Bestimmung an 0,2 cm^3 Blut, das mit Phosphorwolframsäure nach seiner Methode enteiweißt wird. M. Somogyi[9]) hat neuerdings die Methode an nach seinem Verfahren mit Zinkhydroxyd enteiweißten Blut erprobt und gezeigt, daß man nach Vergärung dieser Filtrate überhaupt keine Restreduktion findet. Zu vergorenem Blut zugesetzter Zucker wurde wiedergefunden. Über gleiche Resultate berichten E. S. West, V. Pater-

SON und F. H. SHARLES[21]) bei mit $HgSO_4$ enteiweißtem und mit Zink vom Quecksilber befreitem Blut.

Bei mit Quecksilbersalzen oder $Zn(OH)_2$ enteiweißtem Blut gibt somit sowohl die BANG'sche wie die SHAFFER-HARTMANN'sche Bestimmung Werte, die dem wahren Blutzuckerwert außerordentlich nahekommen. Die Fällung mit Quecksilbersalzen hat indessen den Nachteil, daß deren Überschuß entfernt werden muß, wodurch bei der Enteiweißung zwei Filtrationen nötig werden. Diese Operation kann man vermeiden, wenn man die Zuckerbestimmung nach dem Quecksilberreduktionsverfahren von A. BAUDOUIN und L. LEWIN[21]) ausführt, da hier Quecksilber bei der Bestimmung nicht stört. In diesem Falle wird die Enteiweißung am besten mit Mercurinitrat nach BAUDOUIN und LEWIN ausgeführt. FONTÈS und THIVOLLE haben darauf hingewiesen, daß durch Quecksilbersalze und $Zn(OH)_2$ die von ihnen als „Sucre X" bezeichnete reduzierende Substanz ausgefällt wird. Diese Substanz soll aber kein Abfallprodukt sein, sondern eine wichtige Rolle im Kohlehydratstoffwechsel spielen und deshalb bei klinischen Untersuchungen berücksichtigt werden. Aus diesem Grunde empfehlen G. FONTÈS und L. THIVOLLE, die Enteiweißung nach FOLIN-WU mit der Zuckerbestimmung nach ihrer Methode[4]) zu kombinieren. Sie behaupten, daß ihr Reagens so spezifisch für Zucker ist, daß auch im Wolframsäureblutfiltrat mit ihm keine Restreduktion nachgewiesen werden kann. EGE hat aber mit dieser Methode eine Restreduktion gefunden, die bis 0,012 Proz. betragen hat. Ebenso hat Referent gefunden, daß nach 48 Stunden Glykolyse nach FONTÈS-THIVOLLE bei Enteiweißung nach FOLIN-WU eine gewisse Restreduktion nachzuweisen war. Es ist allerdings möglich, daß diese Restreduktion aus der Hefe stammt oder erst während der Glykolyse im Blute entsteht. Wichtiger erscheint ein anderer Übelstand des Verfahrens der französischen Autoren: Fügt man, nach Erfahrung des Referenten, glykolisiertem Blut Traubenzucker hinzu, so bekommt man nach dieser Methode mehr heraus, als man hineingegeben hat (zirka 10 Proz.). Diese Erscheinung beruht wahrscheinlich darauf, daß entgegen der Annahme von FONTÈS und THIVOLLE ein Teil des bei der Reduktion gebildeten Cu_2O in kolloidaler Lösung bleibt und während des Er-

hitzens reoydiert wird. In Blutfiltraten ist nun ein geringerer Anteil des Cu_2O in kolloidaler Form vorhanden als in reinen Zuckerlösungen. Tatsächlich findet man die in Blutfiltraten zugesetzte Glukose vollständig wieder, wenn man durch entsprechende Versuchsanordnung die Reoxydation des Cu_2O während des Erhitzens verhindert. In der von den Autoren angegebenen Form erscheint jedoch die Methode nicht befriedigend.

Neben den titrimetrischen haben einige kolorimetrischen Kupferreduktionsmethoden für die Blutzuckerbestimmung großen Anklang gefunden. Die Methode Folin-Wu[16]), von E. Ponder und L. Howie[86a]) für 0,2 cm^3, von T. L. Byrd[86a]) für 0,1 cm^3 Blut adaptiert, ergibt bei der Anwendung auf die Wolframsäurefiltrate viel zu hohe Werte, da vor allem das Glutathion wegen seiner verhältnismäßig bedeutenden Menge eine beträchtliche Reduktion verursacht (1 mg Glutathion = $^1/_5$ mg Glukose). Deshalb haben H. Bierry und L. Moquet[87]) und Ben K. Harned[88]) die Enteiweißung mit Mercurinitrat, M. V. Lapa[90]) mit Mercuriacetat mit gutem Erfolge mit der Zuckerbestimmung nach Folin-Wu kombiniert, aber aus oben schon erwähnten Gründen sind diese Verfahren für Serienbestimmungen nicht geeignet. O. Folin und St. R. Benedict haben nun für die Blutzuckerbestimmung ihre neuen Kupferreduktionsmethoden, die gegenüber reduzierenden Nichtzuckern weniger empfindlich sind, angewendet. O. Folin's neues Kupferreagens[17]) erreicht dies durch die gegenüber dem alten Folin-Wuschen wesentlich geringere Alkalität. Tatsächlich sind die auf diese Weise erhaltenen Blutzuckerwerte bedeutend tiefer (10 bis 15 mgproz.) als die nach Folin-Wu ermittelten. Ebenso ist auch die Restreduktion bedeutend kleiner als nach Folin-Wu. Wird aber nach beiden Methoden zuerst die Gesamtreduktion und dann nach Vermischen des Blutes mit einer Hefesuspension, acht Minuten Aufenthalt im Brutofen bei 37°, und Enteiweißung die Restreduktion und durch Subtraktion des zweiten Wertes vom ersten der wahre, vergärbare Zucker ermittelt, so zeigt sich dieser Wert nach Folin-Wu meistens etwas höher als nach der zweiten Folin'schen Methode. O. Folin glaubte das dar-

---

[86a]) E. Ponder und L. Howie, Biochem. Journ., **15**, 170 (1921), T. L. Byrd, Journ. o. lab. clin. med., **11**, 67, 195.

auf zurückführen zu müssen, daß im Blute neben der Glukose noch ein anderer reduzierender Zucker enthalten sei, der bei dem zweiten Verfahren eine geringere Reduktionskraft entwickelt als bei dem ersten. Indessen scheint sich nach M. SOMOGYI[94]) die Sache ganz anders zu verhalten. Bei Zusatz von mehr als 60 mgproz. Glukose zu vergorenem Blut bekommt man nämlich nach dem neuen FOLIN'schen Verfahren nicht wie nach FOLIN-WU die Summe von Restreduktion und zugesetztem Zucker, sondern einen etwas kleineren Wert. Die Anwendung der neuen FOLIN-schen Kupferreduktionsmethode ist also nicht ganz einwandfrei.

Die neueste Methode von ST. R. BENEDICT[20]) gibt, auf FOLIN-WU-Filtrate vom Blute angewendet, ebenfalls viel tiefere Werte für den Blutzucker als die älteren Verfahren. Dies ist vor allem darauf zurückzuführen, daß das Glutathion und das Ergothionein das neue Reagens überhaupt nicht reduzieren. M. EVERETT[95]) hat aber darauf aufmerksam gemacht, daß bei Blutfiltraten ein viel rascheres Ausbleichen der Farbe eintritt als bei reinen Zuckerlösungen. ST. R. BENEDICT[96]) bestreitet dies für die ersten zehn Minuten nach der Farbentwicklung. Indessen scheint die neue BENEDICT'sche Methode denselben Fehler aufzuweisen wie die neue FOLIN'sche. Bei Zusatz von Glukose zu vergorenem Blute wird der zugesetzte Zucker nicht ganz wiedergefunden. ST. R. BENEDICT[20]) führt selbst Versuche an, aus denen dies hervorgeht, glaubt aber, daß dies darauf zurückzuführen sei, daß die für die Restreduktion verantwortlichen Substanzen bei gleichzeitiger Anwesenheit von Traubenzucker sein Reagens nicht reduzieren. Aber die Versuche von EVERETT sprechen gegen diese Deutung. Es gibt im Blute Körper, die die Reduktionskraft der Glukose gegenüber dem neuen Reagens von BENEDICT ebenso vermindern wie gegenüber dem neuen FOLIN'schen. Man kann also wohl sagen, daß die neuen „spezifischen" Reagenzien von FOLIN, BENEDICT und FONTÈS-THIVOLLE keine befriedigenden Resultate gezeitigt haben.

Die Elektrotitrationsmethode von E. MISLOWITZER[23]) ergibt, auf das mit Ferrum dialys. col. nach MICHAELIS enteiweißte Blut an-

---

[94]) M. SOMOGYI, Journ. biol. Chem., **83**, 157 (1929).
[95]) M. EVERETT, Journ. biol. Chem., **82**, 369 (1929).
[96]) ST. R. BENEDICT, Journ. biol. Chem., **83**, 165 (1929).

gewendet, dieselben Resultate wie die Mikro-Bertrand-Methode von Michaelis. Sie erfordert mindestens 0,5 cm³ Blut für eine Bestimmung.

Methoden von R. Weiss (Mikro Pavy)[96a]), L. Fabian[11]), G. Etienne und M. Verain[10]), R. Goiffon und F. Nepveux[13]), L. Lorber[12]) sowie die spektrophotometrische Methode von D. Charnas[14]) haben keine Verbreitung gefunden und dürften für die Blutzuckerbestimmung kaum irgendwelche Vorteile bieten.

2. Ferricyanid-Methoden.

Die heute in Deutschland am meisten verbreitete Methode ist hier die von Hagedorn-Jensen[26]), sowohl was Enteiweißung wie auch die Bestimmung des Zuckers betrifft. Die die Restreduktion bewirkenden Substanzen (vor allem Glutathion) werden durch die Zinkfällung in der Siedehitze nicht vollständig entfernt, weshalb man für den Blutzucker etwas höhere Werte erhält als bei Verwendung der Kupfer- oder Quecksilberreduktionsmethoden und Enteiweißung mit Quecksilbersalzen oder Zinkhydroxyd in der Kälte nach Somogyi. Um die Jodtitration des der Reduktion durch den Traubenzucker entzogenen Ferricyankaliums durch die bequemere Indigokarmintitration nach Flatow[28]) ersetzen zu können, muß dafür gesorgt werden, daß vorher ein Überschuß an Zinksalzen nach der Enteiweißung beseitigt wird. Für diesen Zweck modifiziert Flatow die Enteiweißung nach Hagedorn-Jensen, indem er 0,1 cm³ Blut in eine Mischung von je 1 cm³ 2,5proz. $ZnSO_4$ und $^1/_5$-n-NaOH gibt. Er erhitzt drei Minuten in siedendem Wasserbade, fällt das Zink durch Hinzufügen von zehn Tropfen 10proz. Na_2WoO_4-Lösung, füllt auf 10 cm³ auf, filtriert und bestimmt in 5 cm³ des Filtrats den Zucker. Es ist nicht sicher, ob bei Ausfällen des Zinküberschusses die Restreduktion nicht größer wird als bei dem Originalverfahren von Hagedorn-Jensen. Einen diesbezüglichen Vergleich hat Flatow unterlassen.

Wendet man die Hagedorn-Jensen-Methode auf Blutfiltrate nach Folin-Wu oder Trichloressigsäure nach Neutralisation an, so bekommt man viel zu hohe Werte für den Blutzucker, da die Restreduktion unter diesen Umständen sich sehr stark bemerkbar macht. Durch Änderung der Alkalität des Reagens oder Zusatz

[96a]) R. Weiss, M. med. Wochenschr., **68**, 1255—56 (1921).

von die Reduktion beeinflussenden Substanzen kann man aber die Reduktion des Ferricyankaliums durch Nichtzucker ebenso hemmen, wie es bei Cuprisalzen der Fall ist. So hat O. Folin[30]) seine ferricyanimetrische Methode auf 0,1 cm³ Blut (nach Folin-Wu gefällt) angewendet und dieselben Werte erhalten wie bei $Zn(OH)_2$-Fällung nach Hagedorn-Jensen. Der Zusatz von NaCN zum $K_3Fe(CN)_6$-Reagens bewirkt hier offenbar eine Verminderung der Restreduktion.

Bei Verwendung der gasometrischen Methode von D. D. Van Slyke und J. A. Hawkins[34]) auf Blutfiltrate nach Folin-Wu erhält man dieselben Werte wie bei der Bestimmung nach Folin-Wu. Die Restreduktion ist hier also kleiner als bei der Bestimmung und Enteiweißung nach Hagedorn-Jensen, was von der günstigeren Alkalität des Reagens herrührt.

Mit der manometrischen Methode von A. Foujita und K. Okamoto[36]) endlich bekommt man bei Folin-Wu-Enteiweißung sogar etwas niedrigere Resultate als nach Hagedorn-Jensen mit $Zn(OH)_2$-Enteiweißung. Offenbar ist das von diesen Autoren verwendete Ferricyanid-Phosphatreagens spezifischer für Glukose als alle anderen.

Die Methode von G. Ogawa und Keiso Kodama[32]) gibt zu hohe Werte für den Blutzucker (höher als Folin-Wu), hat aber den Vorteil, daß das zur Enteiweißung benützte Reagens gleichzeitig für die Zuckerbestimmung benützt wird. Es werden 0,1 cm³ Blut mit 5 cm³ 0,3proz. Essigsäure vermischt, auf 6 cm³ aufgefüllt und für drei Minuten ins siedende Wasserbad gestellt. Nach Abkühlung werden 3 cm³ n/200-$K_3Fe(CN)_6$-Lösung hinzugefügt und filtriert. Nach Zusatz von 1 cm³ 10proz. Na_2CO_3 zu 5 cm³ Filtrat wird die Bestimmung nach Ogawa ausgeführt.

Denselben Vorteil bietet das Pikrinsäurereduktionsverfahren nach St. R. Benedict[37]), das A. Baudouin und L. Lewin[21]) für 0,2 cm³ Blut adaptiert haben. Auch hier sind die Werte für den Blutzucker viel zu hoch, da andere im Blute neben dem Zucker befindliche Substanzen die Pikrinsäure ebenfalls reduzieren. Das von St. R. Benedict und E. Osterberg[38]) angegebene Verfahren, bei welchem durch Zugabe von Aceton zum Pikrinsäurereagens die Spezifität der Reaktion erhöht wird, fand für Blut keine Verwen-

dung. Dagegen hat F. J. Paton[97]) das alte Sumner'sche Verfahren (Reduktion der 3 bis 5 Dinitrosalizylsäure) zur Bestimmung des Blutzuckers angewendet.

Methoden, denen die Reduktion von Farbstoffen durch Zucker zugrunde liegt, sind für Blutzuckerbestimmungen ohne jede Bedeutung.

b) Bestimmung des Blutzuckers mit Hilfe der Gärung und der charakteristischen Farbreaktionen der Kohlehydrate.

Diese Methoden haben ihre Bedeutung weniger als Routinemethoden für den täglichen Gebrauch zur Blutzuckerbestimmung als vielmehr in der Verwendung zur Kontrolle der mit den Reduktionsmethoden erhaltenen Resultate.

Die auf der Vergärung des Zuckers durch Hefe beruhende Methode von R. J. Wagner[51]) wurde speziell für das Blutplasma ausgearbeitet. E. Grafe und K. Sorgenfrei[52]) messen mit dem Barcroftmanometer die im nichtenteiweißten Blute durch Hefe entwickelte CO_2-Menge. Die erst vor kurzem veröffentlichte Methode von P. Rona und H. Nicolai[53]), bei welcher diejenige Kohlensäuremenge gemessen wird, die durch bei der Coligärung entstandene Säure aus Natriumbicarbonat freigemacht wird, ist von P. Rona und V. W. Fabisch[98]) auch zur Bestimmung des Zuckers im Blute und im Plasma herangezogen worden. Das Blut wird dabei nach Michaelis mit kolloidalem Eisenhydroxyd enteiweißt. Die Resultate stimmen mit den nach Hagedorn-Jensen erhaltenen überein. Da bei dem letzteren Verfahren sich noch eine gewisse Restreduktion bemerkbar macht, so sind auch die Werte nach der Rona'schen Methode etwas zu hoch. Dies kann darauf beruhen, daß das Bact. coli neben Zucker noch andere Blutbestandteile zu Säuren abbaut oder aus ihnen direkt CO_2 bildet, wie K. P. Jacobsohn[54]) annimmt.

Die von Denigès[55]) angegebene kolorimetrische Zuckerbestimmungsmethode, bei der die Menge des in einer bestimmten Zeit gebildeten Phenylosarons festgestellt wird, ist von diesem Autor

[97]) Paton, Biochem. Journ., **18**, 965 (1924).

[98]) P. Rona und Fabisch, Biochem. Ztschr., **217**, 1 (1930), und ebendort, **227**, 204 (1930).

auch zur Bestimmung des Zuckers in mit Trichloressigsäure enteiweißtem Blute empfohlen worden. A. Baudouin und L. Lewin[24]) haben damit „mäßige Resultate" erhalten. Die Methode von Z. Dische[57]) und H. Popper gibt, auf mit Trichloressigsäure enteiweißtes Blut angewendet, höhere Werte als die guten Reduktionsmethoden. Bei diesem Verfahren wird eben nicht nur der „unmittelbar reduzierende" Zucker, sondern auch der freie, nichtreduzierende Zucker mit erfaßt.

c) Bestimmung des gebundenen Zuckers im Blutplasma.

Der „gebundene" Zucker des Blutes, jenes Kohlehydrat, welches bei der Enteiweißung des Blutes in den Niederschlag geht, ist nach den Untersuchungen von Dische und Rimington ein polymeres Kohlehydrat, welches zu etwa gleichen Teilen aus Mannose und Glukosamin besteht. Dieses Polysaccharid ist hauptsächlich an die Eiweißkörper des Plasmas gebunden. Die roten Blutkörperchen enthalten nur sehr wenig oder überhaupt nichts von gebundenem Zucker. Die Bestimmung des gebundenen Plasmazuckers müßte demnach, solange das Verhältnis von Mannose zu Glukosamin nicht genau bekannt ist, die Bestimmung des einen wie des anderen Zuckers involvieren. Ein solches Mikroverfahren besitzen wir bis heute nicht. Die bisher angegebenen Methoden für das Blutplasma bestimmen die Gesamtreduktion vor und nach Säurehydrolyse jedesmal nach vorheriger Enteiweißung. Die Differenz der beiden Werte wird dann der Menge des gebundenen Zuckers gleichgesetzt. Bei diesem Verfahren hängt dann der erhaltene Wert sowohl von dem Ausmaß der Hydrolyse wie auch von der Art der Enteiweißung ab. Bei Verwendung von Quecksilbersalzen wird das Glukosamin ausgefällt, wodurch die Werte kleiner werden.

Ein anderes Verfahren wendet die kolorimetrische Eiweißzuckerbestimmungsmethode von J. Tillmans und K. Philippi[59]) auf den gebundenen Plasmazucker an. Hier wird nur die Mannose erfaßt, da ja das Glukosamin die angewendeten Kohlehydratreaktionen nicht gibt.

Zur ersteren Gruppe gehören die folgenden Verfahren:

1. Von L. Condorelli[99]): 0,1 cm³ Plasma wird in einem Reagenzrohr mit genau 1,5 cm³ einer Lösung gemischt, die durch Zusammengießen von 1300 cm³ gesättigter KCl-Lösung und 250 cm³ 1/n-HCl und Auffüllen auf 2000 cm³ bereitet wurde, dann wird umgeschüttelt, mit Glasdeckel zugedeckt, durch 10 Minuten im Autoklaven bei 1 Atm. Überdruck erhitzt und mit genau 1,5 cm³ einer durch Vermischen von 1300 ges. KCl-Lösung 250 cm³ 1/n-NaOH und 450 H_2O hergestellten Lösung neutralisiert, durch Hinzufügen von 3 cm³ einer Lösung enteiweißt, die 1300 cm³ ges. KCl-Lösung, 200 cm³ 3proz. Uranylacetat, 3 25proz. HCl, und 5 cm³ 4proz. Essigsäure auf 2000 cm³ enthält. Nach vier Stunden Stehen im Dunkeln wird filtriert und in aliquoten Teilen des Filtrats nach Bang die Reduktion bestimmt. An einer anderen Blutprobe wird der freie Blutzucker nach Bang bestimmt. Die Differenz ergibt die Menge reduzierender Substanzen, die durch diese milde Hydrolyse (nach Buffano findet dabei keine Vermehrung des Aminostickstoffes statt) frei wird.

2. Nach H. Bierry u. A. Voskressensky[100]): 1 cm³ Plasma wird mit 3 cm³ H_2O und 0,35 cm³ entsprechend verdünnter Schwefelsäure (1 Teil konz. H_2SO_4 auf 3 Teile Wasser) vermischt, durch 30 Minuten bei 120° im Autoklaven erhitzt, nach dem Abkühlen mit 2/n-NaOH neutralisiert, 1 cm³ des Patain'schen Reagens und hierauf 2/n-NaOH, bis $p_H = 6{,}5$ erreicht ist, zugesetzt, auf 10 cm³ aufgefüllt, abgenutscht und in aliquoten Teilen des Filtrats die Zuckerbestimmung nach der Mikro-Bertrand-Methode der beiden Autoren ausgeführt.

3. Die Methode von F. Silberstein, F. Rappaport und Wachstein[101]) übernimmt das Prinzip der Hydrolyse von der vorhergehenden; es wird aber nicht mit Quecksilbersalzen, sondern mit Wolframsäure enteiweißt, wodurch das Glukosamin in Lösung bleibt.

Die Hydrolyse wird hier in einem Reagenzglas mit Marke bei

---

[99]) L. Condorelli, zit. nach Grevenstuck, Ergebn. d. Physiol., **28**, 33 (1929).

[100]) Bierry und Voskressensky, Cpt. r. soc. biol., **97**, 659 (1927), **98**, 287 und 744 (1928).

[101]) Silberstein, Rappaport und Wachstein, Biochem. Ztschr., **213**, 355 (1929).

15 cm³ ausgeführt. 0,1 cm³ Plasma oder Serum werden mit 1 cm³ $^2/_3$-n-H_2SO_4 vermischt und 4 Stunden in kochendem Dampfsterilisator gehalten, nach dem Auskühlen 5 cm³ H_2O und 1 cm³ 10proz. Na_2WO_4-Lösung hinzugefügt. Zwecks Vollendung der Enteiweißung kommt das Ganze für drei Minuten in ein Wasserbad von 45°. Nach dem Abkühlen wird auf 15 cm³ aufgefüllt und filtriert. 5 cm³ des Filtrats werden mit 2 cm³ 8,2proz. K_2CO_3-Lösung versetzt und dann die Bestimmung ganz nach der Vorschrift von Hagedorn-Jensen ausgeführt. Die so ermittelten Werte sind aber, wie die Autoren angeben, nicht nur auf Zucker zu beziehen, sondern auch auf andere bei der Hydrolyse freiwerdende reduzierende Substanzen. Dieser Mangel haftet aber auch den anderen Methoden an.

Aus diesem Grunde sollten gerade für die Bestimmung des gebundenen Plasmazuckers die kolorimetrischen Methoden, die auf spezifischen Farbreaktionen der echten Zucker beruhen, herangezogen werden.

B. Lustig und P. Haas[102]) haben nun die Orcinschwefelsäuremethode nach Tillmans und Philippi[59]) zur Ermittlung des Kohlehydratgehaltes der einzelnen Eiweißfraktionen benützt. Als Standardlösung haben sie beim kolorimetrischen Vergleich Glukoselösungen benützt und berechnen die Menge des gebundenen Zuckers als Glukose. Die Werte können deshalb nicht richtig sein, da, wie Dische nachgewiesen hat, Mannose bei diesen Zuckerreaktionen, was die Farbintensität anlangt, sich ganz anders verhält als Glukose. Berücksichtigt man aber diesen Umstand, so kann sowohl die Methode von Tillmans und Philippi wie auch diejenige von Glassmann[103]) zur Bestimmung des gebundenen Zuckers des Plasmas benützt werden, jedoch nur nach vorheriger Abtrennung der Plasmaeiweißkörper[104]) und nicht direkt im Plasma[104]).

B. Bestimmung des Harnzuckers.

Die Mikrobestimmung des Harnzuckers ist, soweit es sich um den Menschen handelt, von keiner prinzipiellen Bedeutung, und

[102]) Lustig und Haas, Biochem. Ztschr., **231**, 489 (1930).
[103]) B. Glassmann, Ztschr. physiol. Chem., **158**, 113, und **162**, 149 (1926).
[104]) Z. Dische, Biochem. Ztschr., **201**, 74 (1928).

hat nur den Zweck, Zeit und Material zu sparen. Für die Untersuchung an kleinen Tieren leistet sie sehr wertvolle Dienste.

Der normale Harn (des Menschen) enthält etwa einige Zehntelprozent Kohlehydrate, und zwar ein nicht reduzierendes, nicht vergärbares, dextrinähnliches Kohlehydrat, das nach Säurehydrolyse aber reduzierende und zum Teil auch vergärbare Zucker liefert, und einen schon ohne Hydrolyse reduzierenden Zucker, der ein Osazon liefert, das große Ähnlichkeit mit dem Phenylglukosazon aufweist. Dieser Zucker ist aber nicht Traubenzucker, da er sich nach LUND und H. S. EAGLE[105]) der Hefe gegenüber anders verhält als der letztere.

Unter „Harnzucker" versteht man die auf Glukose berechnete Reduktion, die der Harn gegenüber den bei der Zuckerbestimmung gebräuchlichen Reagenzien aufweist. Bei Harnen glykosurischer Patienten rührt diese Reduktion zum größten Teil von dem ausgeschiedenen Traubenzucker her. Anders bei normalen Harnen. Hier spielen die reduzierenden Nichtzucker eine viel größere Rolle, als es bei allen anderen Körperbestandteilen der Fall ist, und müssen vor der Bestimmung aus dem Harne entfernt werden. Ebenso macht sich die Zunahme der Reduktion nach Säurehydrolyse, die auf Hydrolyse polymerer Kohlehydrate zurückgeführt wird, beim Harn viel stärker bemerkbar als beim Blute.

Fast sämtliche neueren, besonders amerikanischen Mikrozuckerbestimmungsmethoden fanden ihre Anwendung auf den Harn.

ST. R. BENEDICT und E. OSTERBERG[37]) haben zur Bestimmung des Harnzuckers ihre Pikrinsäure-Pikratmethode angegeben. Um das störende Kreatinin zu beseitigen, versetzen sie einen Teil Harn mit gleichem Volumen von PATAIN's Reagens und festem $NaHCO_3$ im Überschuß, filtrieren, entfernen das Quecksilber mit Zinkpulver und führen die Reduktionsbestimmung im Filtrat aus.

Um die etwas umständliche $Hg(NO_3)_2$-Fällung umgehen zu können, haben BENEDICT und OSTERBERG[38]) später ein anderes Pikrinsäureverfahren ausgearbeitet, bei welchem das Kreatinin nicht stört. Sie versetzen 3 cm^3 Harn (dessen spezifisches Gewicht nicht höher als 1,025 bis 1,03 sein soll; zuckerreiche, dichtere

[105]) EAGLE, Journ. biol. Chem., **71**, 481 (1927).

Harne müssen verdünnt werden) mit 1 cm³ einer 0,6proz. Pikrinsäurelösung und 0,5 cm³ 5proz. NaOH-Lösung sowie fünf Tropfen Aceton (halb zu halb vorher mit H_2O verdünnt) und erhitzen 12 bis 15 Minuten zugleich mit entsprechendem Standard in siedendem Wasserbade. Nach der Abkühlung wird auf 12,5 oder 25 cm³ aufgefüllt und kolorimetriert. Um einige noch mit dem Reagens reagierende Nichtzucker zu entfernen, empfehlen die Autoren, den Harn im Verhältnis 15 : 1 mit Knochenkohle, die vorher durch 30 Minuten mit verdünnter HCl (1 : 4) ausgekocht wurde, durch 5 bis 10 Minuten zu schütteln.

J. B. Sumner hat seine ursprüngliche Methode[39]), die bei kleinem Zuckergehalt keine genügend intensive Färbung ergab und im übrigen höhere Werte für die Reduktion des normalen Harnes aufwies als die Pikrinsäure-Aceton-Methode von Benedict-Osterberg, durch Zusatz von Phenol, Natriumbisulfit und Seignettesalz verbessert[40, 41]). Das neue Reagens wird wie folgt hergestellt: 10 g krist. Phenol zu 22 cm³ 10proz. NaOH zugesetzt und auf 100 aufgefüllt. In 69 cm³ dieser Lösung werden 6,9 g $NaHSO_3$ aufgelöst und 300 cm³ 4,5proz. NaOH, 255 g Seignettesalz und 880 cm³ einer 1proz. Lösung von Dinitrosalicylsäure (von der Eastman Kodak & Co. zu beziehen). 1 cm³ des Harnes (eventuell vorher nach Benedict mit Tierkohle gereinigt) werden mit 3 cm³ des Reagens durch fünf Minuten gleichzeitig mit entsprechendem Standard (der sich nicht zu stark unterscheiden darf) in siedendem Wasserbade erhitzt und auf 25 cm³ aufgefüllt. Das neue Verfahren bietet um zirka 40 Proz. tiefere Werte als das alte. Knochenkohlebehandlung hat nur geringen Einfluß.

Die Methode von Shaffer-Hartmann[8]) kann ebenso wie auf Blut auch auf Harn nach entsprechender Verdünnung angewendet werden. Die störenden Substanzen werden vorher nach Benedict und Osterberg mit Mercurinitrat entfernt. Die Reduktionswerte sind ungefähr so groß wie nach den früher erwähnten Methoden.

Bei der Harnzuckerbestimmung nach Folin-Wu entfernen O. Folin und H. Berglund[106]) die reduzierenden Nichtzucker, indem sie 5 cm³ Harn mit 5 cm³ $^1/_{10}$-n-H_2SO_4, 10 cm³ H_2O und 1,5 g von Lloyd's Alkaloidreagens (eine Art Fuller-Erde) durch zwei Mi-

[106]) O. Folin und Berglund, Journ. biol. Chem., **51**, 209 (1922).

nuten schütteln und filtrieren. Kreatinin, Kreatin, Harnsäure werden dabei vollständig entfernt.

Bei der Anwendung der neuen FOLIN'schen Kupferreduktionsmethode[107]) erhält man in dem mit LLOYD's Reagens behandelten Harn wesentlich tiefere Werte. ST. R. BENEDICT[107]) wies darauf hin, daß bei der Vorbehandlung und Bestimmung nach FOLIN dem Harne zugesetzter Zucker nicht ganz wiedergefunden wird. FOLIN und SVEDBERG[108]) haben deshalb die Behandlung mit LLOYD's Reagens dahin abgeändert, daß sie statt $^1/_{10}$-n-H_2SO_4 eine n/Oxalsäure benützen und das Filtrat nochmals mit feingepulvertem Permutit schütteln. Auf diese Weise kommen sie zu richtigen Resultaten. R. H. HAMILTON[109]) rät statt dessen, LLOYD's Reagens durch 24 Stunden mit konz. HCl und HNO_3 zu extrahieren, mit H_2O zu waschen und zu trocknen. Das so präparierte Pulver kann zur Reinigung des Harnes benützt werden, ohne die Zuckerbestimmung nach FOLIN nachher zu stören.

Auch die Ferricyanidmethoden haben in der letzten Zeit für Mikrobestimmung des Harnzuckers bei Diabetes Verwendung gefunden.

Bei der gasometrischen Methode von D. O. VAN SLYKE und J. A. HAWKINS[34]) wird 1 cm³ eines auf 20 bis 50 cm³ (wenn Zuckergehalt höher als 3,5 Proz., auch mehr) verdünnten Harnes zur Bestimmung verwendet, die sonst wie beim Blut ausgeführt wird.

J. A. HAWKINS und D. O. VAN SLYKE[33]) bestimmen den Zucker diabetischer Harne wie beim Blute nach ihrer Zeitmethode: 1 cm³ Harn wird auf 50 cm³ verdünnt, wenn er mehr als 2 Proz. Zucker enthält auf 200, 2 cm³ werden für die übliche Bestimmung verwendet.

F. B. KINGSBURY[110]) hat eine auf einem ganz neuen Prinzip basierende Methode zur Harnzuckerbestimmung beschrieben. Er fand, daß minimale Mengen von Traubenzucker die Kondensation des Formaldehyds zu Formose in alkalischer Lösung katalysieren. Die gebildete Formose, deren Menge die ursprüngliche Menge des Traubenzuckers in Lösung weit übersteigt, wird mit Hilfe der

[107]) ST. R. BENEDICT, Journ. biol. Chem., **68**, 766 (1926).
[108]) O. FOLIN und SVEDBERG, Journ. biol. Chem., **70**, 405 (1927).
[109]) HAMILTON, Journ. biol. Chem., **78**, 63 (1928).
[110]) KINGSBURY, Journ. biol. Chem., **75**, 241 (1927).

Farbreaktion mit 2,4 Dinitro-, 1 Naphthol-, 7 Sulfosäure quantitativ bestimmt. 2 cm³ des entsprechend verdünnten Harnes werden im Reagenzglas mit 3 cm³ des Reagens (37,5 g Na_2CO_3, 25 g Na_2SO_3, 5 g der 24-Dinitro-1-Naphthol-7-Sulfosäure werden in 450 cm³ H_2O durch eine halbe Stunde gekocht und nach dem Abkühlen auf 500 aufgefüllt; zu 100 cm³ dieser Lösung werden 5 cm³ 10proz. Formaldehydlösung hinzugefügt) versetzt und gleichzeitig mit einer möglichst gleich konzentrierten Standardlösung 15 Minuten in siedendem Wasserbade erhitzt. Nach Abkühlung auf 25 cm³ aufgefüllt und kolorimetriert. Diese Methode liefert ohne irgendwelche Vorbereitung des Harnes (außer entsprechender Verdünnung) nur ein wenig höhere Werte als die neue Kupfermethode von O. Folin und A. Svedberg[110a]), die ihrerseits von allen Reduktionsmethoden die niedrigsten Werte zeigt. Dies ist auf die hohe Spezifität des angewendeten Reagens zurückzuführen. Große Mengen Harnstoff und Kreatinin erniedrigen etwas die Intensität der Farbreaktion. Über das Verfahren liegen noch keine genügenden Erfahrungen vor.

C. Bestimmung der Kohlehydrate in den tierischen Organen.

Die Organe des tierischen Körpers enthalten zahlreiche Kohlehydrate, sowohl in freier wie in gebundener Form, die nur zum Teil näher bekannt sind. Für die Mikrobestimmung kommen nur in Betracht: 1. die freien, ohne vorherige Hydrolyse reduzierenden Substanzen, die als Glukose aufgefaßt werden; 2. die freien, nach Hydrolyse reduzierenden, alkohollöslichen Substanzen, die meistens unter der Bezeichnung „niedere Kohlehydrate“ zusammengefaßt werden; 3. das Glykogen; 4. die Gesamtkohlehydrate, das ist die Gesamtmenge der Kohlehydrate, auf Glukose berechnet, die in den Organfiltraten nach Säurehydrolyse und Entfernung der Eiweißspaltprodukte auftritt und entweder mit Hilfe der Reduktionsmethoden oder eines anderen Verfahrens so bestimmt wird, als ob sie zur Gänze aus Glukose bestünde.

[110a]) O. Folin und A. Svedberg, Journ. biol. Chem., **70**, 405.

1. Bestimmung der freien, reduzierenden Substanzen in den Organen.

Die Bestimmungsmethoden für diese Substanzen sind weniger gut fundiert, als es in bezug auf das Blut der Fall ist. Dies ist zum Teil auf die Schwierigkeit der vollständigen Extraktion des Traubenzuckers aus den Zellen, zum Teil auf die ungenügenden Kenntnisse in bezug auf die reduzierenden, nicht vergärbaren Substanzen der tierischen Gewebe zurückzuführen. Die Extraktion der reduzierenden Substanzen aus den Organen kann erfolgen: 1. durch mehrstündiges Kochen mit heißem Wasser (C. F. Cori und Pucher[111]). Nach M. H. Power[112]) und T. A. Caerson liefert dieses Verfahren zu hohe Werte infolge Anwesenheit großer Mengen reduzierender Nichtzucker. Auch ist die Möglichkeit der Hydrolyse nicht auszuschließen. 2. Durch Zerreiben der Organe in eiskaltem Alkohol. F. Bernhard[113]) extrahiert nach Zerreiben in der Reibschale dreimal mit eisgekühltem 96proz. Alkohol, zentrifugiert jedesmal ab, dampft die vereinigten Alkoholextrakte vorsichtig auf dem Wasserbade ein. Nimmt den Rückstand in Wasser auf, enteiweißt mit Quecksilberacetat unter Zusatz von Kochsalz und bestimmt nach Entfernung des Quecksilbers den Zucker nach Bertrand.

Nach O. Meyerhof und K. Lohmann[114]) werden Gewebsschnitte von 20 bis 30 mg in einer Reibschale in 1 cm^3 96proz. Alkohol zerrieben, dann mit der Suspensionslösung und der Spülflüssigkeit in ein kleines Reagenzglas umgefüllt, so daß sie in 4 bis 5 cm^3 66proz. Alkohol suspendiert sind, und über Nacht stehengelassen, dann zweimal mit 66proz. Alkohol auf der Zentrifuge gewaschen, die alkoholischen Extrakte auf dem Wasserbade eingeengt und im Trockenschrank bei 50° getrocknet, der Rückstand in 3 cm^3 H_2O aufgenommen, mit je 1 cm^3 0,15 n-NaOH und 3,4proz. $ZnSO_4$ versetzt, nach Umfüllen in ein schmales Reagenzglas drei Minuten in siedendem Wasserbade erwärmt, durch ein Asbestfilter filtriert und in einem aliquoten Teil, eventuell nach dreistündiger Hydro-

[111]) C. F. Cori und Pucher, Journ. of Pharmacology, **21**, 377 (1923).
[112]) Power, Journ. biol. Chem., **78**, LVI (1928).
[113]) F. Bernhard, Biochem. Ztschr., **157**, 397 (1925).
[114]) Meyerhof und Lohmann, Biochem. Ztschr., **171**, 385 (1926).

lyse, mit 2,25proz. HCl der Zucker nach HAGEDORN-JENSEN bestimmt.

J. BARAT und G. HETENYI[115]) bestimmen die direkt reduzierenden Substanzen der Organe nach BANG, indem sie ganz dünne Gewebeschnitte von 80 bis 120 mg Gewicht in der BANG'schen Enteiweißungsflüssigkeit extrahieren.

L. CONDORELLI[116]) extrahiert den freien Gewebszucker mit destilliertem Wasser und enteiweißt durch Hinzufügen von 1 cm³ 10proz. Na_2WoO_4 und 1 cm³ $^2/_3$-n-H_2SO_4 zu 5 cm³ des wässerigen Auszugs (etwa 100 mg Gewebe entsprechend). Im Filtrat bestimmt er den Zucker nach BANG. Nach POWER ist aber diese Extraktionsmethode unbrauchbar, da sie viel zu hohe Werte liefert.

2. Bestimmung des Glykogens in den Organen.

Das Glykogen wird fast bei allen Mikromethoden nach dem Verfahren von PFLÜGER aufgeschlossen und dann entweder nach Hydrolyse durch Reduktion oder ohne Hydrolyse nephelometrisch oder kolorimetrisch mit Hilfe einer Farbreaktion bestimmt.

Nach A. SLOSSE[117]) wägt man 0,5 g Organbrei in ein zugestopftes Zentrifugenrohr ein, gibt 1 cm³ siedende 60proz. KOH zu und erhitzt im Wasserbade durch drei Stunden, verdünnt mit 4 cm³ Wasser und läßt erkalten. Dann fällt man das Glykogen durch 10 cm³ 95proz. Alkohol, läßt über Nacht stehen und wäscht dreimal den Niederschlag mit 60proz. und einmal mit absolutem Alkohol, löst in 10 cm³ Wasser, gibt 0,67 cm³ HCl (d = 1,175) zu, hydrolysiert eine Stunde im Wasserbad, füllt auf 15 cm³ auf und bestimmt den Zucker nach HAGEDORN-JENSEN.

O. MEYERHOF und K. LOHMANN[114]) kochen den Rückstand von der (zur Bestimmung der freien, direkt reduzierenden Substanzen vorgenommenen) alkoholischen Extraktion von 20 bis 30 mg Gewebe mit 0,4 cm³ 40proz. KOH durch zwei Stunden im Wasserbade und lassen nach Zusatz von 0,5 cm³ Wasser und 2 cm³ 96proz. Alkohol über Nacht stehen. Das ausgefällte Glykogen wird auf der Zentrifuge je einmal mit 3 bis 4 cm³ 66-, 80-, 96proz. Alkohol

[115]) BARAT und HETENYI, Dtsch. Arch. f. klin. Med., **141**, 358 (1923).

[116]) L. CONDORELLI, zit. nach GREVENSTUK, Erg. d. Physiol., **XXVIII**, 58 (1929).

[117]) SLOSSE, Cmpt. rend. de la Soc. de biol., **97**, 1810—1812 (1927).

und einmal mit Äther gewaschen. Der trockene Rückstand wird mit 2,5 cm³ Wasser schwach erwärmt, durch Asbest abzentrifugiert, aliquote Teile mit 2,25proz. HCl hydrolysiert und nach Hagedorn-Jensen der Zucker bestimmt.

H. Bierry und Gouzon[118]) lösen 5 g Leber in 5 cm³ 35proz. KOH auf dem kochenden Wasserbade und erwärmen dann durch 30 Minuten im Autoklaven bei 120°. Nach dem Abkühlen wird auf 10 cm³ aufgefüllt und 2 cm³ mit 2,5 n-HCl bis zum Umschlag des Bromkresolpurpurpapiers versetzt. Dabei fallen die Proteide aus. Nun werden noch 1,8 cm³ 2,5 n-HCl zugegeben, das Volumen mit Wasser auf 8 cm³ gebracht und wieder durch 30 Minuten im Autoklaven erhitzt. Dann wird bis zur Rotfärbung von Phenolrotpapier 2 n-NaOH, hierauf tropfenweise 3 cm³ von Patain's Reagens hinzugefügt, und aus graduierter Bürette 2 n-NaOH bis zur Violettfärbung des Bromkresolpurpurpapiers zufließen gelassen. Dann wird auf 25 cm³ aufgefüllt, filtriert, Quecksilber mit Zinkpulver geschüttelt, mit Kupferspänen stehengelassen und mit einer Reduktionsmethode die Glukose bestimmt. Der Reduktionswert, mit 0,927 multipliziert, gibt den Glykogenwert.

A. E. Osterberg[119]) gewinnt das Glykogen aus 5 bis 15 mg Gewebe (Herzmuskel, Leber) durch ein mit dem Slosse'schen fast identisches Verfahren und bestimmt es nach Hydrolyse nach Folin.

H. Popper und O. Wozasek[120]) bestimmen das nach Pflüger in der Modifikation von Parnas und Przylecki (die auch Meyerhof und Lohmann bei ihrem oben beschriebenen Verfahren benützen) abgeschiedene Glykogen nicht durch Reduktion, sondern auf Grund der Indol-Schwefelsäurereaktion nach Dische und Popper.

In neuester Zeit hat M. Kerly[120a]) nachgewiesen, daß dem Glykogen eine gewisse Löslichkeit in wasserhaltigem Alkohol zukommt, die übrigens, je nach Art und Größe des gleichzeitigen Salzgehaltes der Lösung, etwas schwankt. Bei geringem Glykogengehalt der Organe kann diese Löslichkeit des Glykogens einen

[118]) Bierry und Gouzon, Cmpt. rend. de la Soc. de biol., **99**, 186 (1928).
[119]) Osterberg, Journ. biol. Chem., **85**, 97 (1930).
[120]) Popper und Wozasek, Ztschr. f. d. ges. exper. Med., im Druck.
[120a]) M. Kerly, Biochem. Journ., **XXIV**, 63 (1930).

Fehler bei der Bestimmung nach PFLÜGER bedingen. Sie empfiehlt deshalb folgenden Vorgang bei der Glykogenbestimmung nach PFLÜGER: Nachdem der Organbrei mit dem gleichen Volumen 60proz. KOH durch $2^1/_2$ Stunden im siedenden Wasserbade erhitzt worden ist, wird mit 40 Proz. Trichloressigsäure bis zur Violettfärbung des Bromkresolpurpurs neutr., mit doppeltem Volumen Alkohol gefällt, Niederschlag mit absolutem Alkohol gewaschen und wie üblich hydrolysiert.

3. Bestimmung der Gesamtkohlehydrate in den Organen.

Das von O. LÖWI ausgearbeitete Verfahren zur Makrobestimmung der Gesamtkohlehydrate in den Organen ist von C. F. CORI[121]) für Mikrozwecke adaptiert worden. Derselbe hydrolysiert 1 bis 3 g fein zerkleinerte Leber mit 10 bis 15 cm^3 2,5proz. HCl durch vier Stunden im Wasserbad, neutralisiert, enteiweißt mit Mercuriacetat, filtriert und bestimmt nach Entfernung des Quecksilbers den Zucker durch Reduktion.

Schon früher hat E. LESSER[122]) dasselbe Verfahren für die Bestimmung der Gesamtkohlehydrate im Froschschenkel benützt.

Um die zeitraubende Enteiweißung der Organhydrolysate zu umgehen, haben Z. DISCHE und H. POPPER[57]) ihre Zuckerbestimmungsmethode für die Gesamtkohlehydratbestimmung in den Organen empfohlen. 0,1 bis 0,5 g Gewebe werden dabei mit 2 bis 3 cm^3 fein zerrieben, in eine Eprouvette quantitativ überführt, mit HCl bis zu einem Gehalt von 2,2 Proz. versetzt und durch zwei Stunden in siedendem Wasserbade erhitzt, dann auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt, so daß die Zuckerkonzentration im Filtrat 0,005 und 0,05 Proz. liegt, und der Zucker nach DISCHE-POPPER gegen einen Glukosestandard bestimmt.

E. BURGHARDT und O. PAFFRATH[123]) geben an, daß die nach der letzten Methode an der Leber gefundenen Werte etwa 0,23 Proz. von den nach PFLÜGER gefundenen Glykogenwerten differieren.

---

[121]) C. F. CORI, Journ. o. pharmacology and exper. Therap., **25**, 1—33 (1925).

[122]) E. J. LESSER, Biochem. Ztschr., **103**, 1 (1920).

[123]) E. BURGHARDT und O. PAFFRATH, Klin. Wochenschrift **II**, 1479 (1927).

Referate.

Eine neue Methode zur maßanalythischen Bestimmung der Methoxyl- und Äthoxylgruppe. I. Makroanalyse. Von F. VIEBÖCK und A. SCHWAPPACH. *Ber. d. D. chem. Gesellsch.*, **63**, *2818—2823 (1930).* II. Mikroanalyse. Von F. VIEBÖCK und C. BRECHER. *Ber. d. D. chem. Gesellsch.*, **63**, *3207—3210 (1930).* Pharmaz.-chem. Universitäts-Laborat. Wien.

Zur maßanalytischen Bestimmung der Methoxyl- und Äthoxylgruppe führen die Autoren die Bestimmung des (nach ZEISEL erhaltenen) Alkyljodids so durch, daß sie das darin enthaltene Jod durch Oxydation zu Jodsäure titrierbar machen. Als Absorptionsflüssigkeit für das Alkyljodid verwenden sie eine Lösung von Brom in Eisessig; hierbei addiert das Jodalkyl Brom unter Bildung eines Jodidbromides: $C_2H_5J + Br_2 \longrightarrow C_2H_5J \cdot Br_2$; dieses Additionsprodukt ist jedoch unbeständig und spaltet sich in Bromjod und Alkylbromid gemäß: $C_2H_5J \cdot Br_2 \longrightarrow C_2H_5Br + BrJ$, das Bromid wird durch überschüssiges Brom rasch zu Jodsäure oxydiert: $BrJ + 2\,Br_2 + 3\,H_2O \longrightarrow HJO_3 + 5\,HBr$. Das Jodat kann nach Zusatz von KJ mit $Na_2S_2O_3$ titriert werden gemäß: $HJO_3 + 5\,HJ = 3\,J_2 + 3\,H_2O$. Infolgedessen kommen auf ein Jodalkyl sechs Atome Jod; dieser große Verbrauch an Titerflüssigkeit ermöglicht eine sehr starke Herabsetzung der Einwaage. Weitere Vorteile dieses Verfahrens sind: geringer Verbrauch an HJ und Unempfindlichkeit der Absorptionsflüssigkeit gegenüber Phosphor- und Schwefelwasserstoff.

I. Makroanalyse. Einwaage zwischen 20 und 50 mg. Titration mit 0,1 n-$Na_2S_2O_3$-Lösung, wobei 1 ccm 0,1-n-$Na_2S_2O_3$-Lösung 0,51706 mg CH_3O, bezw. 0,75067 mg C_2H_5O entsprechen. Der Apparat ist, abgesehen von geringfügigen Veränderungen, dem von STRITAR angegebenen nachgebildet.

II. Mikroanalyse. Die bisher empfohlenen maßanalytischen Mikromethoden von H. LIEB[1]) und von M. RIPPER und F. WOHACK[2]) besitzen vor der gravimetrischen Bestimmung den Nachteil, daß an Stelle einer Auswaage von 2,33 mg AgJ lediglich ein Verbrauch von 1 ccm 0,01-n-Titerflüssigkeit tritt.

VIEBÖCK und BRECHER kommen bei Einwaagen von 3 bis 5 mg Substanz mit einer $^1/_{30}$-n-$Na_2S_2O_3$-Lösung aus, was auch einen Vorteil bezüglich der Titerbeständigkeit der $Na_2S_2O_3$-Lösung bedeutet. Nur bei Einwaagen von weniger als 1 mg Substanz ist man auf die Verwendung einer 0,01-n-$Na_2S_2O_3$-Lösung angewiesen; daß sich auch in letzterem Falle die Anbringung einer kleinen Korrektur

---

[1]) PREGL's Monographie.

[2]) Ztschr. landwirtschaftl. Versuchswesen in Österreich, **19**, 372, u. **20**, 102.

für die Empfindlichkeit des Stärkekleisters erübrigt, haben Blindversuche der Verfasser ergeben.

Für die Durchführung der Mikroanalyse benützen VIEBÖCK und BRECHER den von F. PREGL angegebenen Apparat mit folgenden Veränderungen: Das Kölbchen ist nicht wie bei diesem angeschmolzen, sondern eingeschliffen, was die leichte Durchführung von Serienanalysen ermöglicht. Durchmesser des Kölbchens etwa 22 mm (Fassungsraum 3—4 ccm HJ). Breite des Kölbchenhalses 9—10 mm, Höhe des Apparats vom Kölbchenboden bis zur Krümmung 22 cm. Breite der Rohrverbindungen 1,5 bis 2 mm. Der Wäscher wird nicht von unten, sondern durch ein kommunizierendes Rohr gefüllt. Zum Verschluß des Einleitungsrohres und des Wäschers empfehlen die Verfasser Glasstopfen, da so winzige Korkstopfen sehr bald unbrauchbar werden. Die als Absorptionsgefäß dienende bauchige Eprouvette wird an ihrem unteren Ende mit einem Glashahn versehen, der ein leichteres Ausspülen ermöglicht.

Besondere Reagenzien: Die $^1/_{30}$ n-Lösung von $Na_2S_2O_3$ wird durch Auflösen von 8,3 bis 8,4 g $Na_2S_2O_3$ p. a. in 1 Liter destilliertem Wasser hergestellt und zur Erhöhung der Haltbarkeit mit 0,5 g KF versetzt. — Lösung von 20 g Kaliumacetat in 200 ccm Eisessig. — Der Zusatz von Kaliumacetat zur Absorptionsflüssigkeit ist zur Abstumpfung der entstehenden Mineralsäure erforderlich.

Ausführung der Analyse: 3 bis 5 mg Substanz werden in 5 bis 6 mm weite und ebenso hohe Glasnäpfchen eingewogen. Den Wäscher füllt man mit einer sehr dichten Aufschlämmung feinen Phosphorpulvers. In das Absorptionsgefäß bringt man 3 bis 4 ccm des Essigsäure-Acetat-Gemisches und fügt zwei bis drei Tropfen Brom hinzu. In das Siedekölbchen füllt man nun die HJ und etwas grobes Phosphorpulver, das den Siedeverzug verhindert und außerdem die HJ dauernd regeneriert. Den Gasstrom reguliert man so, daß immer nur eine Blase von CO_2 durch die Flüssigkeit streicht. Nach dem Einbringen der Substanz erhält man die HJ 20 bis 30 Minuten im Sieden. Nachher wird der Inhalt der Vorlage mit Wasser in ein Erlenmeyer-Kölbchen gespült, in dem bereits 0,5 bis 1 g Natriumacetat aufgelöst wurde. (Es darf kein festes Salz an den Wandungen haften, weil es zu Bromatbildung führen kann.) Zur Zerstörung des überschüssigen Broms setzt man vier bis fünf Tropfen Ameisensäure hinzu und schwenkt eine Minute lang um. Von der völligen Zerstörung des Broms überzeugt man sich durch Methylrot, das schon durch die geringsten Mengen Broms zerstört wird. Die bromfreie Lösung wird mit 0,1 bis 0,2 g KJ versetzt, mit H_2SO_4 angesäuert und das ausgeschiedene Jod mit $Na_2S_2O_3$-Lösung aus einer Mikrobürette bestimmt; 1 ccm $^1/_{30}$ n-$Na_2S_2O_3$-Lösung entspricht 0,17235 mg CH_3O, bezw. 0,25020 mg C_2H_5O.

Die Brauchbarkeit und Exaktheit der Methode erhellt aus einer großen Anzahl von Beleganalysen; sogar mit Substanzmengen von nur 0,4 bis 0,5 mg wurden noch korrekte Resultate erhalten. A. BONDI.

Zur quantitativen Bestimmung kleiner Quecksilbermengen in organischen Substanzen. Von KNUD O. MOLLER. *Biochem. Ztschr.*, **223**, *379—386 (1930).* (Pharmakologisches Institut der Universität Kopenhagen.)

Infolge der Flüchtigkeit von Quecksilberverbindungen entstehen bei der quanti-

tativen Quecksilberbestimmung in Organen und Fäzes mittels Säureveraschung im offenen Rundkolben stets Verluste. Um solche zu vermeiden, wird ein besonderer Veraschungskolben vorgeschlagen, der Kühlvorrichtung besitzt, in welcher sich die entweichenden Säuredämpfe und das mit ihnen verflüchtigte Quecksilber kondensieren. In der während der Destillation gekühlten Vorlage wird das Quecksilber mit Schwefelwasserstoff gefällt. Nach Lösung des Sulfids in Königswasser wird das Quecksilber aus der mit Wasser verdünnten Lösung elektrolytisch bestimmt. Die Badspannung wird auf 1,10 bis 1,15 Volt gehalten.

H. Preissecker.

Mikro-Eisenbestimmung an chlorophyll-defekten Blättern. Von Dagmar Runehjelm. *Biochem. Ztschr.*, **224**, *481—486 (1930).* (Biochemisches Institut der Universität Stockholm.)

Zur Feststellung des Gesamteisengehaltes in chlorophyll-defekten und chlorophyll-normalen Blättern wird folgende Mikromethode angegeben: Zirka 30 Keimblätter werden abgeschnitten, zwischen Filterpapier getrocknet, fein geschnitten und gewogen. Zur Ermittlung des Trockengewichtes erhitzt man 20 Stunden auf 70° und 24 Stunden auf 100°. Die Veraschung erfolgt zuerst über freier Flamme, dann durch vierstündiges Glühen im elektrischen Ofen auf 600°. Die Asche wird in 1 cm^3 2n-HCl gelöst, zur Oxydation des Eisens mit zwei Tropfen Perhydrol versetzt und auf dem Wasserbad eingedampft. Der Rückstand wird nochmals in 1 cm^3 2n-HCl gelöst und das Eisen kolorimetrisch mit Ammonrhodanid nach der Methode von Friedenthal und Lachs (Biochem. Ztschr., **32**, 130 [1911]) bestimmt. Die wäßrige Lösung des Eisenrhodanids wird noch nach Schönheimer und Oshima (Ztschr. f. physiol. Chem., **180**, 254 [1929]) mit Äthylacetat ausgeschüttelt und in einem Dubosque-Kolorimeter in Mikrogefäßen mit analog bereiteten Eisenstandardproben verglichen.

Dabei zeigte sich, daß weiße, chlorophyllarme Tradescantia-Blätter einen mehr als doppelt so hohen Gesamt-Fe-Gehalt als normale Blätter aufweisen, dagegen bei Keimblättern von Gerste (Albina-Typus) kein Unterschied besteht.

H. Preissecker.

Methode zur Bestimmung kleiner Silicium- und Calciummengen in den Lungen. Von Arendina G. Kroese und F. J. Nieuwenhuyzen. *Biochem. Ztschr.*, **225**, *208—211 (1930).* (Hygienisches Institut der Technischen Hochschule in Delft, Holland.)

Verfasser beschreiben ein Verfahren zur Bestimmung kleiner Mengen von Calcium und Silicium (eventuell Phosphor) in tierischen Organen. Nach Trocknen und Pulverisieren der zu untersuchenden Organe wird mittels eines elektrischen Ofens in einem Nickeltiegel verkohlt und durch dreistündiges Erhitzen im Sauerstoffstrom auf 300 bis 350° vollständig verascht. Die Aschenanalyse erfolgt hierauf wie allgemein üblich. Der Vorteil der Methode beruht auf der Veraschung bei niedriger Temperatur in kieselsäurefreien Apparaten ohne Anwendung von Platingefäßen.

H. Preissecker.

Zur Bestimmung des Sulfidschwefels im Stuhle. Von J. St. LORANT und F. REIMANN. *Biochem. Ztschr.*, **228**, *300—309 (1930)*. (I. Medizinische Klinik der Deutschen Universität in Prag.)

Die Verfasser geben eine Methode zur genauen Ermittlung kleiner, bisher nicht bestimmbarer Mengen von Schwefelwasserstoff an. Der durch Boraxlösung konservierte Stuhl wird in einer Kugelmühle verrieben. Aus einem aliquoten Teil der erhaltenen Suspension wird Schwefelwasserstoff nach Ansäuern mit 50prozentiger Phosphorsäure durch einen mit alkalischer Pyrogallollösung gewaschenen Luftstrom ausgetrieben und in einer Zinkacetatlösung aufgefangen. Der Sulfidschwefel wird kolorimetrisch nach der Methode von LORANT bestimmt, die auf der Bildung von Methylenblau aus Dimethyl-p-phenylendiaminsulfat und Schwefelwasserstoff durch Ferrisalze beruht. H. PREISSECKER.

CO_2-Bestimmung in Flüssigkeiten und Geweben durch Mikrotitration. Von A. KROGH und P. BRANDT-REHBERG. *Biochem. Ztschr.*, **225**, *177—182 (1930)*. (Zoophysiologisches Laboratorium der Universität Kopenhagen.)

Von den Verfassern werden Apparate und Methoden für eine Mikrobestimmung von CO_2 in Flüssigkeiten beschrieben. Ein in der Originalarbeit abgebildeter Apparat eignet sich zur Bestimmung von 30 bis 700 mm^3 CO_2 in 3 bis 20 cm^3 Wasser. Ein anderer Apparat, mit einem besonders konstruierten Abmeßhahn versehen, dient für die Bestimmung von gleichgroßen CO_2-Mengen in nur 0,1 bis 0,15 cm^3 Flüssigkeit, z. B. Blut. Die Kohlensäure wird durch Phosphorsäure im Vakuum ausgetrieben, in Barytlösung aufgefangen und mittels einer Mikrobürette mit Salzsäure titriert. H. PREISSECKER.

Permanganattitration im erwärmten Medium. Von E. ERNST und G. HORVÁTH. *Biochem. Ztschr.*, **224**, *135—144 (1930)*. (Pharmakologisches Institut der Universität Pécs.)

Verfasser stellen fest, daß die Selbstreduktion dem Gesamtverbrauch von $KMnO_4$ proportional ist, so daß sich eine Eichungskurve konstruieren läßt, aus der für jeden $KMnO_4$-Verbrauch der auf die Selbstreduktion und der auf die Oxydation der zu bestimmenden Substanz entfallende Anteil unmittelbar abgelesen werden kann. Milchsäure wird in sauren Medien durch $KMnO_4$ in der Hitze quantitativ zu Essigsäure oxydiert. Die unter Erwärmung durchgeführte Permanganattitration ermöglichte es, noch einige γ Lactat quantitativ zu ermitteln.

Durchführung: Verschiedene Mengen von Oxalat (z. B. 0,2, 0,5 und 1 cm^3), bezw. von Lithiumlactat werden in Zentrifugenröhren mit dest. H_2O auf 1 cm^3 aufgefüllt. Zu jeder Röhre kommen je nach der Größenordnung der Lactatkonzentration 2 cm^3 0,1n-, 0,01n-, bezw. 0,05n-$KMnO_4$ und je 2, 1, bezw. 0,5 cm^3 20proz. H_2SO_4. Die Proben werden 15 Minuten im kochenden Wasserbad erhitzt, mit je 2 cm^3 Oxalat versetzt und das überschüssige Oxalat mit $KMnO_4$ zurücktitriert. Die mit Oxalat angesetzten Proben ergeben die Eichungskurve.

H. PREISSECKER.

Mikromethode zur Bestimmung von vierfach ungesättigten Fettsäuren. Von H. TANGL. *Biochem. Ztschr.*, **226**, *180—184 (1930)*. (Physiologisches Institut der Universität Budapest.)

Fettsäurebromide mit weniger als acht Bromatomen sind in heißem Benzol löslich, Oktabromide dagegen nicht.

Da die Menge der vierfach ungesättigten Säuren im Blut und in Organen für eine gewichtsanalytische Bestimmung meist zu klein ist, schlägt Verfasser folgendes Bestimmungsverfahren vor:

Die Fettsäuren werden bromiert und die niedrigeren Fettsäurebromide mit heißem Benzol entfernt, die Oktabromide in Anwesenheit einer bestimmten Menge Silbernitrat oxydiert und das überschüssige Silbernitrat titrimetrisch bestimmt.

Durchführung: 5 cm^3 Blut oder Serum werden in einem Kolben tropfenweise mit Alkoholäther vermischt und nach sechsstündigem Stehen bei Zimmertemperatur filtriert. Das Filtrat wird mit einer 3proz. Lösung von Brom in Eisessig tropfenweise unter Rühren versetzt, bis die Bromfarbe bestehen bleibt. Nach 12- bis 24stündigem Stehen wird der Niederschlag abfiltriert und mit heißem Benzol gewaschen. Filter mit Niederschlag werden dann in dem Kolben des TSCHOPP'schen Veraschungsapparats mit 5 cm^3 n/100-Silbernitratlösung, 1 cm^3 H_2O_2 und 2 cm^3 konz. HNO_3 versetzt. Der Apparat hat den Vorteil, daß das verflüchtigte Halogen in dem oberen Trichter durch eine H_2O_2-Lösung aufgefangen und wieder in den Kolben zurückgelassen werden kann. Die Oxydation ist nach halbstündigem Kochen beendet. Nach dem Erkalten setzt man Stärkelösung hinzu und titriert mit 0,0/n Jod bis zur Blaufärbung. H. PREISSECKER.

Milchsäurebestimmung im Muskel. Von E. ERNST und J. TAKÁCS. *Biochem. Ztschr.*, **224**, *145—150 (1930).* (Pharmakologisches Institut der Universität Pécs.)

Der Muskel wird im Kohlensäureschnee-Äthergemisch gefroren und dann gewogen. Aus der mit Phosphorsäure vermischten Muskelmasse wird die Milchsäure mit Äther extrahiert, ein aliquoter Teil des Äthers abgedampft, der Rückstand mit Wasser versetzt, zur Entfernung der Fettsuspension filtriert und im Filtrat die Milchsäure mit Permanganat unter Erwärmung bestimmt.

H. PREISSECKER.

Über eine exakte Mikromethode zur Bestimmung der gesamten Fett- und Lipoidmenge im Blute. I. Von R. IWATSURU, M. MORIMOTO und M. TAMURA. *Biochem. Ztschr.*, **224**, *437—447 (1930).* (II. medizinische Klinik, medizinische Akademie zu Osaka.)

Verfasser extrahieren das Fett und Lipoid mit Alkohol-Äther, oxydieren den Verdunstungsrückstand mit einer gemessenen Menge Chromat in schwefelsaurer Lösung und ermitteln das überschüssige Chromat jodometrisch. Aus der verbrauchten 0,1/n-Chromatlösung wird das Fett und Lipoid als Triolein berechnet.

Ausführung: 20 bis 40 mg Blut werden mit einem entfetteten und gewogenen Papier abgesaugt, sofort gewogen und einige Stunden bei Zimmertemperatur hängen gelassen. Hierauf taucht man das Papier in ein mit 2 bis 3 cm^3 Alkohol-Äthermischung beschicktes kleines Becherglas, das nach dem Verfahren von WEINBERG (Auskochen mit einer Lösung von 15 g Soda und 150 g Seignettesalz in 3 Liter H_2O) gereinigt und dessen Rand scharf abgeschnitten wurde. Erwärmt einige Minuten auf dem kochenden Wasserbad, zieht das Papier wieder heraus, wäscht es mit Äther-Alkohol ab und läßt den auf dem Wasserbad bis fast zur Trockene eingedampften Extrakt stehen. Nach Trocknen des Extrakts über $CaCl_2$

im Exsikkator werden 1 cm³ 0,1/n-K_2CrO_4 und 5 cm³ H_2SO_4 ziemlich schnell hinzugefügt, mit Wasser auf zirka 60 cm³ verdünnt und nach Zusatz von 1,5 cm³ 5proz. KJ-Lösung und einiger Tropfen Stärke mit 6,1/n-$Na_2S_2O_3$-Lösung titriert.

H. Preissecker.

Radiometrische Mikrozuckerbestimmung. Von Rudolf Ehrenberg. *Biochem. Ztschr.*, **226**, *250—252 (1930).* (Physiologisches Institut der Universität Göttingen.)

Verfasser ändert die Methode von Hagedorn-Jensen dahin ab, daß er, statt das verbliebene Ferricyanid jodometrisch zu bestimmen, die Menge des entstandenen Ferrocyanids radiometrisch ermittelt.

Durchführung: 0,2 cm³ glukosehaltige Lösung (Menge 1,5 bis 10^{-3} mg Glukose) wird in einem Zentrifugenglas mit 0,5 cm³ 0,01/n-$K_3Fe(CN)_6$ und Na_2CO_3 versetzt und 15 Minuten im Wasserbad erwärmt. Nach dem Erkalten wird 0,5 cm³ einer indizierten (Thorium B) 0,05/n-$Pb(NO_3)_2$-Lösung (sie enthält auf 20 cm³ Lösung 0,5 cm³ Eisessig) zugesetzt. Nach eingetretener Trübung wird zentrifugiert, 0,5 cm³ abpipettiert, im Uhrschälchen eingedampft und elektrometriert. Zur Bestimmung der „Kontrollaktivität" wird 0,2 cm³ Wasser an Stelle der Glukoselösung verwendet. Aus den Aktivitäten kann man die Glukosemenge mittels einer angegebenen Standard-Eichtabelle berechnen.

Bei Zuckerbestimmung im Blut ist vorher Enteiweißung mit Alkohol vorzunehmen.

H. Preissecker.

Verhalten und Wirkung organischer Schwefelverbindungen im Hundeorganismus. I. Mitteilung: Wirkung und Schicksal des Thiophens im Stoffwechsel des Hundes. Von Anast. A. Christomanos. *Biochem. Ztschr.*, **229**, *248—254 (1930).* (Biologisch-Chemische und I. Innere Abteilung des Städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

In Anlehnung an die Milchsäurebestimmung mittels der Fletscher-Hopkinsschen Reaktion hat der Verfasser eine Methode zur kolorimetrischen quantitativen Bestimmung kleiner Mengen von Thiophen (0,07 bis 7 mg) ausgearbeitet. Der Harn wird mit Soda alkalisch gemacht, auf dem Wasserbad eingeengt und nach Zusatz von konz. H_2SO_4 destilliert. Aus dem Destillat wird das Thiophen mit Äther ausgeschüttelt und folgendermaßen bestimmt: In einem Reagenzgläschen werden 5 cm³ konz. H_2SO_4 zwei Tropfen gesättigte $CuSO_4$-Lösung und 0,05 cm³ 1/n-Milchsäurelösung gemischt und drei Minuten in ein kochendes Wasserbad gehalten. Nach Abkühlen fügt man die zu untersuchende ätherische (oder alkoholische) Lösung hinzu, schüttelt und läßt zehn Minuten bei Zimmertemperatur stehen. Je nach der vorhandenen Thiophenmenge tritt eine blaßrosa, über kirschrot ins rotbraune gehende Färbung auf, die im Kolorimeter mit der Farbe einer ebenso behandelten alkoholischen Thiophenlösung von bekanntem Gehalt verglichen wird.

H. Preissecker.

Der Methylalkohol in den alkoholischen Getränken. Von Norberto A. Espinosa. I. Teil. Kritische Untersuchung der Methoden zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung. *Anales de la Asociacion Quimica Argentina*, **18**, 57—73 *(1930).* (Buenos-Aires, Laboratorium der Oficina Quimica Nacional.)

Der Verfasser gibt eine ausführliche Literaturzusammenstellung über den Nachweis und die Bestimmung von Methanol in Alkohol. Er vergleicht selbst die Methoden nach DENIGÈS-VILLAVECCHIA und nach CHAPIN. Als Empfindlichkeitsgrenze gibt der Verfasser für die Methode DENIGÈS-VILLAVECCHIA 0,0002 ccm Methanol an, für die Methode CHAPIN 0,00008 ccm. WILLSTAEDT.

Halurorganimetrie. Ein neues Verfahren zur Bestimmung von Halogen in organischen Substanzen. Von JUAN A. SANCHEZ. *Anales de Farmacia y Bioquimica*, **1**. *121—134 (1930)*. (Buenos-Aires, Medizin. Fakult., Abt. f. analyt. Chemie der Arzneimittel.)

Es wird ein neues Verfahren zur Halbmikrobestimmung von Halogen in organischen Substanzen beschrieben, das den Vorteil bietet, auch da befriedigende Ergebnisse zu liefern, wo die Methode nach CARIUS schlechte Werte liefert, z. B. beim Hexachlorbenzol oder beim β-Bromanthrachinon, sowie in Fällen, wo beim Erhitzen mit Salpetersäure Explosion eintritt.

Prinzip: Die Substanz wird im geschlossenen Rohr mit festem Kaliumpermanganat verbrannt. Das Reaktionsprodukt wird mit Wasser extrahiert, der Überschuß an Permanganat wird mit Wasserstoffsuperoxyd zerstört. Dann wird das Halogen (Jod liegt dann als Jodat vor) titrimetrisch bestimmt.

Ausführung: 20 mg der Substanz werden mit 800 mg Kaliumpermanganat und 250 bis 300 mg Bimsstein vermischt und quantitativ in ein Rohr aus widerstandsfähigem Glas (12 cm lang, 1,5 cm Durchmesser und 1 mm Wandstärke) überführt. Das zugeschmolzene Rohr wird in einer Metallhülse während zweieinhalb Minuten durch die starke Flamme eines Meker brenners gezogen und nach dem Erkalten in eine starkwandige Flasche überführt, die 20 ccm destilliertes Wasser enthält. Durch kräftiges Schütteln der verschlossenen Flasche wird das Röhrchen zerbrochen. Man öffnet vorsichtig die Flasche (Überdruck!) und führt die Flüssigkeit in ein 200-ccm-Becherglas über. Man fügt tropfenweise unter Umrühren mit einem Glasstabe halogenfreies Wasserstoffsuperoxyd bis zur Zerstörung des überschüssigen Kaliumpermanganats hinzu und filtriert von den ausgeschiedenen Manganoxyden ab.

Hat man Chlor zu bestimmen, so säuert man mit 10 Tropfen konzentrierter Salpetersäure an und beseitigt den Überschuß an Salpetersäure mit 0,5 g reinem Kalziumkarbonat. Dann gibt man 4 Tropfen 5%ige Kaliumchromatlösung hinzu und titriert mit Silbernitrat.

Hat man Brom zu bestimmen, so wird das Filtrat von den Manganoxyden mit 20% Schwefelsäure und mit Mangandioxyd versetzt und aus einem Kjeldahlkolben destilliert. Das Destillat wird in alkalischer Kaliumjodidlösung aufgefangen, das freigemachte Jod mit Natriumthiosulfat titriert.

Hat man Jod zu bestimmen, so wird die von Manganoxyd abfiltrierte Flüssigkeit zur Zerstörung der Wasserstoffsuperoxyds 10 Minuten gekocht. Die Lösung enthält nun das Jod als Jodat. Man fügt 1 g Kaliumjodid und 20 Tropfen konzentrierte Salzsäure dazu und titriert das freigemachte Jod.

Die Beleganalysen zahlreicher organischer Substanzen werden angeführt.

WILLSTAEDT.

Bücherschau.

Selbsttätige Filtrationsapparate. Von Prof. Dr. J. V. DUBSKÝ. IV und 32 S. Mit 43 Abbildungen. Verlag Georg Thieme, Leipzig 1931. Preis geh. Mk. 3.—.

Versuche, chemische Operationen automatisch zu gestalten, entsprechen dem Streben nach Rationalisierung und Energieersparnis, und finden sich in der neueren Literatur häufig beschrieben. Das Filtrieren und Auswaschen schwer filtrierbarer Niederschläge oder größeren Niederschlagsmengen ist schon von den älteren Chemikern als zeitraubend empfunden worden, Vorschläge, die Filtration selbsttätig zu gestalten, finden wir daher schon in einer Zeit, in welcher das Rationalisierungsprinzip noch nicht modern war.

Es muß als sehr dankenswert bezeichnet werden, daß ein Fachmann wie J. V. DUBSKÝ mit großer Sorgfalt die in der chemischen Literatur seit BERZELIUS beschriebenen Vorschläge zur selbsttätigen Filtration gesammelt und klar und übersichtlich in einem kleinen, mit zahlreichen, das Verständnis erleichternden Abbildungen versehenen Büchlein dargestellt hat.

Wenn auch die Mikrochemie ihre eigenen Filtrationsgeräte besitzt, gilt sinngemäß das für die Makrochemie Vorgeschlagene auch für die Mikrochemie, und kann zur Weiterführung einschlägiger Versuche anregend und befruchtend wirken.

F. FEIGL.

Mikroskopische Untersuchung pflanzlicher Nahrungs- und Genußmittel. Von Dr. GUSTAV GASSNER. Verlag von Gustav Fischer, Jena 1931. 357 Seiten. Mit 718 Abbildungen im Text. Preis broschiert 24 RM, gebunden 26 RM.

Das vorliegende Buch, welches nach dem ursprünglichen Plane des Verfassers als eine Neubearbeitung der „Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung der vegetabilischen Nahrungs- und Genußmittel" von A. F. W. SCHIMPER gedacht war, hat in seiner weiteren Bearbeitung eine vollkommene Umänderung erfahren und stellt in der jetzigen Fassung ein Werk dar, das nicht nur als Einführung für Studierende, sondern auch als Handbuch für die Praxis dienen kann. Die Grundzüge der Botanik, ebenso die allgemeine, in der Botanik geübte mikroskopische Technik werden selbstverständlich als bekannt vorausgesetzt. Dagegen ist unter besonderer Berücksichtigung der Praxis das Buch mit zahlreichen, neu angefertigten Zeichnungen und Photographien ausgestattet. Eine Neuerung in dieser Richtung besteht darin, daß für die Wiedergabe bei allen Abbildungen der gleiche Maßstab (200 : 1) gewählt wurde. Dadurch sollte bei der Betrachtung der Abbildungen ohne weiteres ein unmittelbarer Vergleich und eine richtige Vorstellung von den Größenverhältnissen ermöglicht werden. Die dabei erwachsenden Nachteile, daß manche Objekte auffallend klein, andere dagegen besonders groß dargestellt sind, werden nach Ansicht des Verfassers dadurch reichlich aufgewogen, daß jegliche Verwirrung durch Abbildungen verschiedenen Vergrößerungsmaßstabes fortfällt. Nach einem kurzen, allgemeinen Teil über Mikroskop, mikroskopische Nebenapparate, sonstige Hilfsmittel, Reagenzien sowie über die Durchführung mikroskopischer Untersuchungen werden im speziellen Teile nachfolgende Gruppen von Nahrungs- und Genußmitteln in systematischer Anordnung behandelt: Getreidearten und ihre Mahlprodukte (mitinbegriffen die Verunreini-

gungen des Getreides, pilzliche Parasiten, tierische Organismen, Untersuchung von Mehlen, Brot und Backwaren); stärkehaltige Hülsenfrüchte und ihre Mahlprodukte; Stärke (vergleichende Zusammenstellung der wichtigsten Stärkearten); ölhaltige Samen und Früchte (mikroskopische Untersuchung derselben sowie ihrer Preß- und Extraktionsrückstände); Obst und Obstprodukte; Genußmittel (Kaffee, Kaffeesurrogate, Kakao und dessen Zusätze und Verfälschungen, Kolanuß, Tee und Tee-Ersatzmittel, Mate, Tabak sowie Untersuchung von Rauchtabak, Schnupftabak und Kautabak); Gewürze (Samen und Früchte, Knospen, Blüten und Blütenteile, vegetative Pflanzenteile); Speisepilze. Ein eigenes Kapitel ist noch der Untersuchung von Honig, der Beschreibung der wichtigsten im Honig vorkommenden Pollenkörner und der Beurteilung des Honigs auf Grund der mikroskopischen Untersuchung gewidmet.

Die instruktive, leicht faßliche und übersichtliche Darstellung der vorhin aufgezählten Kapitel und die Aufnahme zahlreicher, das Beschriebene erläuternder Abbildungen und vergleichender Übersichtstafeln (z. B. Stärkearten, Zusammenstellung der verschiedenen Senfarten, Pollenkörner usw.) sind Momente, die für den Wert des Buches sowohl für den Unterricht als auch für die Praxis sprechen und eine allgemein günstige Aufnahme erwarten lassen. Nicht unerwähnt darf auch die gefällige Ausstattung des Buches von seiten des Verlages bleiben.

Adolf Mayrhofer.

Pflanzenmikrochemie. Von O. Tunmann. Zweite vermehrte und verbesserte Auflage von L. Rosenthaler. 1047 Seiten, 190 Abbildungen. Preis geb. 78 RM. Verlag Gebrüder Borntraeger, Berlin W 35.

Es war ein glücklicher Gedanke seitens des Verlages, zur Abfassung der neuen Auflage der schon seit einiger Zeit vergriffenen, allseits bestens geschätzten Pflanzenmikrochemie von Tunmann den bekannten Pharmakognosten und Phytochemiker L. Rosenthaler heranzuziehen, da letzterer die Pflanzenmikrochemie souverän beherrscht und durch eigene Forschungen vielfach bereichert hat. Die seit der Veröffentlichung der ersten Auflage 1912 bekanntgewordenen pflanzen- und mikrochemischen Forschungsergebnisse hat der Verfasser mit der Tunmann'schen Grundlage zu einem stattlichen Bande von Eigenprägung verarbeitet. Eine ganze Anzahl neuer Abschnitte mußte aufgenommen, die früheren Abschnitte erweitert und vielfach umgearbeitet werden. Der behandelte Stoff gliedert sich in einen allgemeinen Teil und in eine spezielle Mikrochemie. Im ersteren werden das Untersuchungsmaterial, die Präparation, Reagenzien und Reaktionen, die Mikrosublimation, Aufhellungs-, Quellungs- und Bleichmittel, Mazerationsmethoden, die Mikrotomtechnik, Färbungen, Bestimmungen optischer Konstanten, das Arbeiten mit Dunkelfeldkondensator, Fluoreszenzmikroskop und Mikromanipulator, das Zählen und Messen unter dem Mikroskop, die Anfertigung von Dauerpräparaten, Aschen- und Verkohlungspräparaten dargestellt. Der spezielle Teil ist den anorganischen und organischen Einzelbestandteilen der Pflanzen, ferner einer gesonderten mikrochemischen Bearbeitung des Protoplasten und der Zellmembrane gewidmet. Nachträge und ein sorgfältig zusammengestelltes Register schließen das Buch ab. Als großer Fortschritt muß gewertet werden,

daß ROSENTHALER die in der neueren Mikrochemie in schärferer Fassung als früher gebrauchten allgemeinen Fachausdrücke auch in der Phytomikrochemie zur Anwendung bringt. Ferner begnügt sich der Verfasser nicht mit der einfachen Erörterung der mikrochemischen Methodik und Tatsachen, sondern versteht es, die mikrochemischen Befunde mit biologischen Gesichtspunkten lebensvoll und anregend zu verknüpfen. Von den sonstigen Vorzügen des Werkes seien noch zwei besonders hervorgehoben. Erstens einmal ist die neuere einschlägige Literatur in außerordentlicher Vollständigkeit verarbeitet, zweitens atmet das Buch Seite für Seite die Präzision ROSENTHALER's und den Geist seiner kritischen Auffassung der Wissenschaft. Es kann somit die Pflanzenmikrochemie von TUNMANN und ROSENTHALER jedem, der sich auf diesem Gebiete unterrichten will oder sich in eigener Arbeit zu betätigen wünscht, als der zuverlässigste Ratgeber empfohlen werden.

R. WASICKY.

Varia.

Der Vorstandsrat des Vereines Deutscher Chemiker hat beschlossen, Herrn **Hofrat Prof. Dr. F. Emich**, Graz, die LIEBIG-Denkmünze zu verleihen.

Die Urkunde lautet:

Der Verein Deutscher Chemiker E. V. verleiht die

LIEBIG-Denkmünze

in seiner 44. Hauptversammlung zu Wien am 28. Mai 1931 Herrn Hofrat Professor Dr. FRIEDRICH EMICH in Graz, dem genialen Mikrochemiker, der durch seine umfangreichen, zielbewußten Arbeiten die Mikrochemie, die uns den Nachweis kleinster organischer Substanzmengen gestattet, zu einem der wichtigsten Zweige der analytischen Chemie entwickelt hat.

Der in diesem Jahre zum erstenmal zur Verleihung gelangende FRITZ-PREGL-Preis ist für ausgezeichnete mikrochemische Arbeiten bestimmt. Die Akademie hat beschlossen, den Preis in der Höhe von eintausend Schilling dem Privatdozenten der Wiener Universität **Dr. Fritz Feigl** für seine Arbeiten über Tüpfelanalyse zu verleihen.

Durch die zahlreichen, von FEIGL geschaffenen Methoden der Tüpfelanalyse wird eine derartige Verfeinerung und Vereinfachung der qualitativen Analyse herbeigeführt, daß die Schaffung dieser Arbeitsweisen als ein Markstein in der analytischen Chemie bezeichnet werden kann. Besondere Anerkennung verdient auch das erfolgreiche Bestreben FEIGLS, das Komplexbildungsvermögen organischer Stoffe für die Tüpfelanalyse auszuwerten. FEIGL hat übrigens auch zahlreiche andere mikroanalytische Methoden mannigfachster Art ausgearbeitet.

Aus: Anzeiger der Akademie der Wissenschaften in Wien, mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse, 1931, Nr. 15.

A. o. Professor Dr. Hans Lieb wurde zum ordentlichen Professor der angewandten medizinischen Chemie der Universität Graz ernannt.

Universitätsprofessor Hans Molisch wurde wegen seiner hervorragenden Verdienste um die Pflanzenbiologie in Japan zum Ehrenmitglied der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften in Tokio erwählt.

Prof. Dr. O. Hönigschmid, Ordinarius für analytische Chemie an der Universität München und Leiter des Atomgewichtslaboratoriums, erhielt einen Ruf an die Technische Hochschule Wien. Die dort seit dem Tode von M. Bamberger und L. Moser unbesetzten Lehrkanzeln wurden zu einem Ordinariat für anorganische und analytische Chemie vereinigt.

Hofrat Prof. Dr., Dr. phil. et med. h. c. R. Wettstein, Wien, Direktor des Botanischen Gartens, Vizepräsident der Akademie der Wissenschaften in Wien, Vorsitzender der Österreichisch-Deutschen Arbeitsgemeinschaft, ist am 11. August im Alter von 68 Jahren auf seinem Landsitz Trins im Gschnitztal am Brenner gestorben.

„Die Mikrochemie eine österreichische Wissenschaft." Über dieses Thema hat anläßlich der Chemikertagung zu Pfingsten in Wien Privatdozent Dr. R. Strebinger in der Österreichischen Radio-Verkehrs-A. G. am 29. Mai einen Vortrag gehalten, in welchem die besonderen Verdienste österreichischer Gelehrter auf diesem Spezialgebiete gewürdigt wurden.

Die Gesamtergebnisse der Chemikertagung wurden am 7. Juni in einem populären Radiovortrage des Dekans der Chemisch-technischen Fakultät der Wiener Technischen Hochschule, Prof. Dr. H. Paweck, zusammengefaßt.

Dechema-Tätigkeitsbericht 1930. Der Tätigkeitsbericht für 1930 der Dechema, Deutsche Gesellschaft für chemisches Apparatewesen, E. V., ist soeben erschienen und enthält die Berichte über wissenschaftliche Vorträge, Mitteilungen wissenschaftlicher Fortschritte, die durch Abhandlung im Vereinsorgan: „Die chemische Fabrik", den Fachgenossen zugänglich sind, Berichte der Ausschüsse zur Bearbeitung wichtiger Fragen auf dem Gebiete des chemischen Apparatewesens, Auszeichnungen, Bericht über die Achema VI und über interne Vereinsangelegenheiten.

Der erste internationale Kongreß des Neuen Internationalen Verbandes für Materialprüfungen hat vom 6. bis 12. September 1931 in Zürich stattgefunden. Wie unseren Lesern aus dem ausführlichen Bericht in Band VII, Seite 397 ff., bekannt ist, tagte vom 8. bis 11. Oktober 1929 der Deutsche und der Österreichische Verband für die Materialprüfungen der Technik in Wien und widmete den dritten Tag (10. Oktober) den Verhandlungen über Mikrochemie. Das von Dozent Dr. F. Feigl erstattete Hauptreferat über „Mikrochemie und Materialprüfung" ist in den „Ersten Mitteilungen des Neuen Internationalen Verbandes für Materialprüfungen" (Band D, 1931) zum Abdrucke gelangt.

DIE MIKROCHEMIE

auf der 44. Hauptversammlung des Vereines Deutscher Chemiker zu Wien, Pfingsten 1931.

Tagung der Mikrochemie.

Die 44. Hauptversammlung des VEREINES DEUTSCHER CHEMIKER in Wien (vom 26. bis 30. Mai 1931) stand im Zeichen der Mikrochemie, da nicht nur in der analytischen Fachgruppe nahezu lediglich Vorträge mikrochemischen Inhaltes gehalten wurden, sondern auch in einer gemeinsamen Sitzung verschiedener Fachgruppen als Thema Mikrochemie angesetzt worden war. In den Rahmen dieser Tagung fügte sich auch eine Ausstellung ein, die eine gründliche und umfassende Übersicht über alle Behelfe geboten hat, welche derzeit für die so vielfach verwendeten mikrochemischen Arbeitsmethoden erforderlich sind. Die Wiener Hauptversammlung stellte einen Markstein in der Entwicklung der Mikrochemie dar, da diese zum erstenmal als besonderer Verhandlungsgegenstand auf der Tagung des Vereines stand, der die Chemiker deutscher Sprache umfaßt.

Die Verleihung der LIEBIG-Denkmünze an den Altmeister der Mikrochemie, Hofrat Prof. Dr. F. EMICH in Graz, eine der wenigen Ehrungen, welche der große Verein Deutscher Chemiker an die bedeutendsten und erfolgreichsten Forscher vergibt, war nicht nur eine persönliche Auszeichnung dieses Gelehrten, sondern auch eine besondere Anerkennung der Tatsache, daß die von EMICH in Österreich begründete mikrochemische Forschung daselbst die hervorragendste Pflege gefunden hat.

Die Zeitschrift MIKROCHEMIE, welche zu Ehren der Tagung ein Kongreßheft gebracht hat, will auch durch nachfolgenden Versammlungsbericht, durch Originalwiedergabe der mikrochemischen Vorträge sowie durch einen ausführlichen Bericht über die erstmalig stattgefundene MIKROCHEMIE-AUSSTELLUNG dieses denkwürdige Ereignis festhalten.

VERSAMMLUNGSBERICHT.

Gemeinsame Sitzung verschiedener Fachgruppen.

Freitag, 29. Mai 1931, im Großen Musikvereinssaal.

Thema: **Mikrochemie.**

(Allgemeine Mikrochemie und ihre Anwendungen.)

1. Hofrat Prof. Dr. F. Emich, Graz: „Über Mikrochemie.“ Einleitender Vortrag.

2. Prof. Dr. H. Lieb, Graz: „Entwicklung und Fortschritte der quantitativen organischen Mikroanalyse.“

3. Dr.-Ing. F. Grassner, Ludwigshafen: „Anwendung der Mikrochemie in der Technik.“

4. Dr.-Ing. M. Niessner, Wien: „Mikrochemie in der Metallkunde.“

Sitzung der Fachgruppe für analytische Chemie.

Mittwoch, 27. Mai 1931.

5. P. Krumholz, Wien: „Über Tüpfelreaktionen.“

6. Dr. H. Löffler, Wien: „Mikrogasanalyse“.

7. Prof. J. B. Niederl, New York: „Über die quantitative, mikroanalytische Bestimmung von geringsten Mengen Äthylalkohol in menschlichen und tierischen Organen und dessen Isolierung daraus in Form von Äthyljodid.“

8. Dr. A. Benedetti-Pichler, New York (nach Versuchen mit A. O. Gettler): „Die Isolierung von Äthylalkohol aus menschlichen Organen.“

9. Prof. Dr. R. H. Müller, New York: „Über die Anwendung photoelektrischer Methoden in der Präzisionskolorimetrie.“

Gemeinsame Sitzung der Fachgruppe für analytische Chemie und anorganische Chemie.

10. Priv.-Doz. Dr. F. Feigl, Wien: „Katalyse und Mikrochemie“ (mit Experimenten).

11. Priv.-Doz. Dr. R. Strebinger, Wien: „Anwendung der Mikroanalyse bei Untersuchungen von Edelmetallegierungen.“

12. Prof. Dr. F. L. Hahn, Frankfurt a. M.: „Die heutigen Grenzen mikrochemischen Erkennens und Messens.“ (Infolge Erkrankung des Vortragenden von Herrn Prof. Dr. W. Böttger vorgelesen.)

13. Prof. Dr. J. Lindner, Innsbruck: „Fortschritte in der maßanalytischen Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes im Dienste der organischen Elementaranalyse.“

14. Prof. Dr. H. Lieb, Graz: „Eine neue Mikrobestimmung des Kohlenstoffes durch nasse Verbrennung.“

15. Dr. A. Friedrich, Wien: „Quantitative mikroanalytische Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes.“ „Quantitative Mikro-Stickstoffbestimmung (Dumas).“

16. Dr. O. Werner, Berlin-Dahlem: „Über den Verteilungszustand gelöster Stoffe in extremer Verdünnung.“

VORTRÄGE).*

Über Mikrochemie.

Von F. Emich, Graz.

A. Einleitung.

Das erste, das ich einleitend sagen muß, ist ein herzliches Wort des Dankes an unsere Vortragsleitung für die Einladung, diesen Vortrag zu halten. Sie hat mich in einen kleinen Pflichtenkonflikt gebracht: ein hervorragender Kollege meinte einmal: die Fortschritte in der Wissenschaft werden nicht durch Kongreßreden erzielt, sondern durch die stille Arbeit im Laboratorium. Danach sollte man eigentlich keine Kongreßreden halten. Aber anderseits sagte ich mir, daß man die Pflicht habe, einer derartigen Einladung zu folgen, wenn sie von maßgebender Stelle ausgeht; dieses Moment hat den Ausschlag gegeben.

Es war ein selbstverständlicher Wunsch der Vortragsleitung, den Namen FRITZ PREGL*[1]) auf dem Programm zu sehen. Der Meister hatte auch schon zugesagt, eine überaus traurige Fügung hat ihn uns bald danach entrissen. Ebenso mußte ein von Professor WASICKY versprochener Vortrag wegen Erkrankung entfallen. So waren einige Umstellungen erforderlich, und wir haben uns die Aufgaben schließlich so geteilt, daß ich die einführende Vorlesung über Mikrochemie behielt und Herr Kollege LIEB, der langjährige Mitarbeiter PREGL's, den Bericht über die quantitative organische

*) *Diese Vorträge sind in der „Zeitschrift für angewandte Chemie" (Verlag Chemie G. m. b. H., Berlin) am 5. September 1931 veröffentlicht worden. Der Abdruck erfolgt mit Genehmigung der Redaktion der genannten Zeitschrift.*

[1]) Der Stern bedeutet Vorführung eines Projektionsbildes.

Mikroelementaranalyse übernahm. Damit entfällt für mich die Aufgabe, PREGL's Verdienste eingehend zu würdigen. Sie sind ja nicht nur weltbekannt, sondern eben auch in dem Vortrage Prof. LIEB's niedergelegt.

Abb. 1. Fritz Pregl.

Was PREGL der Mikrochemie geleistet hat, legt auch uns, das heißt den Überlebenden, Pflichten auf. Jede gewonnene Höhe erregt den Wunsch nach weiterem Aufstieg, denn in der Naturwissenschaft von heute gibt es keinen Gipfel. Setzen wir also unsere ganze Kraft ein, um weiter Tüchtiges hervorzubringen. Das sei unsere Devise in der gegenwärtigen bitter ernsten Zeit! Um diesem Gedanken Rechnung zu tragen, habe ich einige kleine Hinweise auf noch zu lösende Probleme aufgenommen. Sonst soll der Vortrag einen sehr gedrängten Überblick über die Entwicklung und den gegenwärtigen Stand der Mikrochemie bringen, wobei wir uns an WILHELM OSTWALD erinnern wollen, der seine Leitlinien der Chemie einer Reihe von Querschnitten verglich, wie sie der

Morphologe anfertigt, um sich ein gutes Bild von seinem Studienobjekt zu verschaffen. Ich wage nicht, Ihnen die Vorführung einer solchen Reihe zu versprechen. Aber vielleicht ist Ihnen mit einigen Dünnschliffen gedient, von denen ich hoffen will, daß sie passenden Stellen entnommen und zureichend klar ausgefallen sind.

I.

Wenn wir in der Geschichte der Experimentalwissenschaften blättern, begegnen wir immer wieder dem Bemühen nach Vervollkommnung der Arbeitsmethoden. Das heißt, man will eine gegebene Aufgabe mit kleinerem Aufwand an Material und Arbeitskraft oder unter Erreichung eines höheren Grades von Genauigkeit wie bis dahin lösen; oder, was gedanklich ziemlich dasselbe ist, man will die Schwierigkeiten in der Behandlung der Materie, welche Schwierigkeiten uns durch die zeitlichen, räumlichen und stofflichen Verhältnisse diktiert werden, immer besser und besser überbrücken.

Wie weit dies in einem gegebenen Falle möglich ist, kann nur der Versuch entscheiden. Denn, wenn das Können mit dem Wollen immer parallel ginge, brauchten wir keine Experimentalwissenschaft. Da die Chemie zu den grausamen Wissenschaften zählt, in dem Sinne, daß sie kostbarstes Untersuchungsmaterial sehr oft zerstören muß, wenn sie es näher kennenlernen will, hat sie an der Materialersparnis ein hervorragendes Interesse. Und es besteht kein grundsätzliches Hindernis, sie sozusagen bei jedem Versuche anzuwenden, denn man hat seit Auffindung des Gesetzes der konstanten Proportionen auch das Axiom aufgestellt, daß die chemischen Erscheinungen in quantitativer und wohl auch in qualitativer Hinsicht nicht von den absoluten, sondern nur von den relativen Stoffmengen abhängen. Wenn wir sagen „Axiom", so ist damit gemeint, daß die gedachte Annahme nur in einem sehr kleinen Gebiet geprüft werden konnte, die allgemeine Formulierung also eine weitgehende Extrapolation bedeutet. Für die allerkleinsten Dimensionen gilt die Annahme nach heutiger Auffassung wohl nicht, denn man stellt sich z. B. den Elementarwürfel des Chlornatriums aus 13 Natriumatomen und 14 Chloratomen bestehend vor. Daß unsere Annahme für die ganz großen, kosmischen Massen

gilt, ist ungeheuer wahrscheinlich, aber experimentell nicht zu prüfen.

Verzeihen Sie diese Exkursion, der praktisch keine Bedeutung zukommt, es sei denn, daß man etwa an sekundäre Einflüsse, wie die der Gefäßwand, denkt. So hat z. B. Fritz Paneth beobachtet, daß das Boyle'sche Gesetz bei sehr kleinen Gasmengen nicht mehr gilt, ebenso wie auch mäßig kleine Knallgasmengen aus demselben Grund mittels eines Funkens nicht mehr zur Explosion gebracht werden können.

Da also, wie gesagt, ein grundsätzliches Hindernis, die Materialmengen bei chemischen Versuchen zu verkleinern, im allgemeinen nicht besteht, können wir diese Verkleinerung soweit vornehmen, als es die Beobachtungs- und Manipulationsmöglichkeiten gestatten.

Und wir können in allgemeinster Fassung jedes Bestreben, welches bei chemischen Versuchen eine wesentliche Materialverminderung unter das bisher erforderliche Maß bezweckt, als eine Aufgabe der Mikrochemie bezeichnen. Mit der Materialersparnis geht auch oft der Gewinn an Zeit und Energie parallel. Will man zahlenmäßige Angaben machen, so kann man nach Feigl die Grenze der qualitativen Mikroreaktionen mit etwa $10\,\gamma$[2]) nachzuweisender Substanz angeben. Bei den üblichen quantitativen Mikroanalysen arbeitet man mit einigen Milligrammen, bei den präparativen Methoden mit entsprechend mehr. Übrigens verschieben sich die Grenzen selbstverständlich im Laufe des Arbeitsganges; ja gerade eine zweckmäßige Kombination von Makro- und Mikroarbeit bringt die größten Vorteile; eine solche Arbeitsweise hat z. B. Wilhelm Böttger in seinem ausgezeichneten Lehrbuch benutzt.

Jedenfalls erscheint unser Gebiet als ein Teil der allgemeinen Chemie, denn außer der Analyse wird stets auch die präparative Arbeit an den Mikromethoden hervorragend interessiert sein, wie wir gestern in dem schönen Vortrag von E. Späth neuerdings erfahren haben. Überdies braucht man bei dem Bestreben, die Grenzen des experimentellen Könnens festzulegen, nicht unbedingt an die Anwendung zu denken. Sie stellt sich bei einer leistungsfähigen Methode ganz von selbst ein.

[2]) $1\,\gamma = 0{,}001$ mg.

II.

Bevor wir auf weiteres eingehen, ein paar Worte zum Kapitel der Reinheit der Stoffe.

Bekanntlich reichen die quantitativen Methoden oft nicht entfernt aus, um selbst ziemlich bedeutende Mengen von Verunreinigungen zu entdecken, denn der Einfluß der letzteren auf die Brutto-

Abb. 2. Fallende positive Schliere. Steigende negative Schliere.

zusammensetzung ist (z. B. bei homologen Verbindungen) oft sehr klein. In solchen Fällen haben namentlich die optischen Methoden dem Chemiker sehr wertvolle Dienste geleistet. Es sei an das Interferometer von HABER und LÖWE erinnert, das winzige Unterschiede im Brechungsindex verrät, und an die berühm-

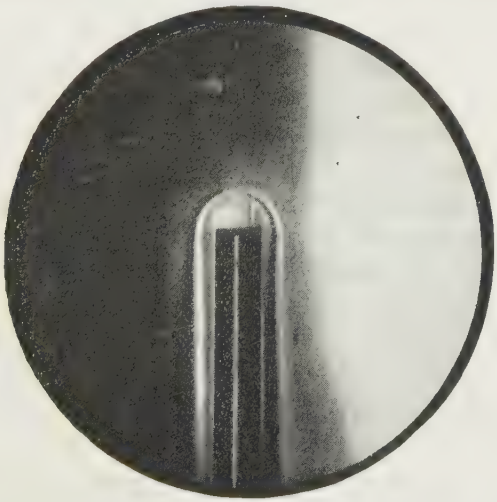


Abb. 3. D-Schliere.

ten Arbeiten von Windaus und Pohl über das Cholesterin, bei welchen Arbeiten namentlich das Spektroskop herangezogen wurde. In meinem Laboratorium ist die Schlierenmethode neuestens als ein brauchbares Mittel für den Vergleich von Flüssigkeiten und Gasen erkannt worden. Sie kann unter anderem namentlich auch bei refraktometergleichen Flüssigkeiten Unterschiede anzeigen. Statt längerer Ausführungen nur ein paar einfache Beispiele: zuerst eine gewöhnliche Schliere* (Abb. 2), wie sie sich z. B. bei verschieden brechenden Lösungen eines und desselben Stoffes einstellt, und weiters eine sogenannte D-Schliere* (Abb. 3), wie man sie bei refraktometergleichen Flüssigkeiten erhält.

Die experimentelle Vorführung von Schlieren würde den Rahmen unseres Vortrages überschreiten. Es besteht aber — dank dem Entgegenkommen von Prof. E. Haschek — die Möglichkeit, einige einfache Schlierenversuche vorgeführt zu bekommen, die mein Assistent Dr. Schally zeigen kann. Ich glaube, daß das Gebiet weitere Bearbeitung verdient. Teilweise ist sie schon erfolgt.

Bleiben wir noch einen Augenblick beim Reinheitsproblem, so braucht wohl nicht gesagt zu werden, daß die Erzielung einer vollkommenen Reinigung unerreichbar ist. Unter anderem hat Wilh. Ostwald auf diesen Zustand als einen Grenzzustand hingewiesen.

Ja, man kann geradezu von einer Abneigung der Natur gegen die reinen Stoffe sprechen. Denn die unreinen Stoffe sind im allgemeinen ungleich leichter zugänglich als die reinen. Kepler's Ansicht, an die Paneth kürzlich erinnerte, daß die Natur die Einfachheit liebe, kann im chemischen Sinne, nämlich, was die chemisch einheitlichen Stoffe anbelangt, wohl nicht gelten. Oder sollte die Mischung das Einfachere sein? Sicher ist sie in den meisten Fällen der wahrscheinlichere Zustand.

Praktisch interessiert sind wir natürlich vor allem an den „reinen" Reagenzien. Hierbei kommt aber nicht die „absolute Reinheit" in Betracht, das heißt ein Freisein von allen Verunreinigungen, sondern nur eine „relative Reinheit", das heißt ein Armsein an schädlichen Bestandteilen, welche relative Reinheit verhältnismäßig leicht zu erreichen ist. Man sollte sich dabei aber nicht mit qualitativen Bezeichnungen, wie das sinnlose Wort „chemisch rein" eine darstellt, abfinden, sondern den Reinheitsgrad nach Möglichkeit zahlenmäßig angeben, was ja auch schon mehr-

fach geschieht. Zweckdienlich erscheinen die Vorschläge von Franz Mylius, der den negativen Exponenten einer Zehnerpotenz zur Angabe des Reinheitsgrades benützt, z. B. ein Metall vom zweiten Reinheitsgrad nennt, wenn der Nebenbestandteil (die „Verunreinigung") in einer maximalen Menge von 10^{-2} (das heißt von 0,1 bis 1%) vorhanden ist[3]).

Die Vollkommenheiten der verschiedenen Methoden laufen natürlich nicht immer parallel und wie in vielen Fällen wird auch hier durch einen Wettstreit zu immer größerem Fortschritt angeeifert. Ich meine dies so: Einmal werden die präparativen Methoden die höhere Leistungsfähigkeit haben, das heißt Präparate liefern, in denen die Analyse keine Verunreinigung mehr nachweisen kann, ein andermal wird die Analyse Verunreinigungen auffinden, wo die präparative Methode schon die Grenze der Leistungsfähigkeit erreicht hat. Man wird dabei unwillkürlich an den weniger edlen Wettkampf zwischen Geschossen und Panzerplatten erinnert.

Beispielsweise hat N. Schoorl in Utrecht, dem wir umfangreiche Untersuchungen auf qualitativ-mikrochemischem Gebiete verdanken, in allen ihm zugänglichen Kadmiumpräparaten Spuren von Kupfer gefunden. Die Feststellung des Grenzverhältnisses ist an diesem Umstand gescheitert.

Indem wir nun zu einigen Einzelheiten übergehen, sei nochmals vorausgeschickt, daß es bei der Fülle des Materials unmöglich ist, alles Wichtige zu streifen oder gar alle Namen zu nennen, die es verdienen würden.

B. Qualitativer und präparativer Teil.

I.

Beginnen wir mit dem qualitativen und präparativen Teil, so interessiert vor allem die Frage nach der Empfindlichkeit einer Reaktion. Fritz Feigl kann das große Verdienst für sich in Anspruch nehmen, für jeden Teilbegriff der Empfindlichkeit eine eindeutige Bezeichnung vorgeschlagen zu haben, nämlich:

Erfassungsgrenze für die Mengenempfindlichkeit,

Empfindlichkeitsgrenze für die Konzentrationsempfindlichkeit,

[3]) Vgl. auch J. Timmermans, La Notion d'Espèces en Chimie, Gauthier-Villars; ferner Helv. chim. Acta **XIV**, 445 (1931).

Grenzverhältnis für die Nachweisbarkeit von X neben A. F. L. Hahn und Feigl schlagen neuestens vor, statt „Empfindlichkeitsgrenze“ von nun ab „Grenzkonzentration“ zu sagen, was den Vorteil bietet, daß der Ausdruck „Empfindlichkeit“ zur Kennzeichnung des Gesamtbildes einer Reaktion vorbehalten bleibt. Auf welchen Teilwert der Empfindlichkeit besonders Gewicht zu legen ist, richtet sich nach dem gegebenen Fall.

Die Erfassungsgrenze gibt man zweckmäßig in γ an; das Grenzverhältnis ist definitionsgemäß eine unbenannte Zahl. Die Grenzkonzentration kann man entweder als tatsächliche Konzentration angeben (Bezeichnung: $\gamma \cdot cm^{-3} = \gamma$ pro cm^3) oder man kann sie als Grenzverhältnis gegen das Lösungsmittel deuten (wobei die Anzahl der Gramme der Anzahl der Kubikzentimenter gleichgesetzt wird).

Welch außerordentlich verschiedene Erfassungsgrenzen einzelnen Reaktionen zukommen, zeigt die folgende Zusammenstellung*.

Tabelle der Erfassungsgrenzen[1]).

Substanz bzw. Bestandteil	Art der Reaktion	Erfassungsgrenze in Gramm	Erfassungsgrenze Zahl der Atome (Molek.)
	Makroreaktionen im Proberöhrchen[2])	10^{-6}—10^{-1}	10^{16}.—10^{21}
	Kristallfällungen[2])	$\sim 10^{-6}$	$\sim 10^{16}$
	Tüpfelreaktionen[2])	$\sim 10^{-6}$	$\sim 10^{16}$
OH′	Lackmusseide	3×10^{-10}	10^{13}
Na	Spektroskop	10^{-10}	3×10^{12}
Merkaptan .	Geruch	2×10^{-12}	2×10^{10}
Jodoform . .	Geruch	10^{-14}	4×10^{7}
He	Spektroskop	10^{-14}	2×10^{9}
H_2	Spektroskop	10^{-15}	3×10^{8}
Au-Teilchen .	Ultramikroskop	10^{-18}	3×10^{3}
Ra Em . .	Elektroskop	6×10^{-20}	$1{,}8 \times 10^{2}$
Fluorescein[3])	Fluorescenz im U. M.	5×10^{-20}	10^{2}
α-Teilchen .	Spinthariskop	$6{,}6 \times 10^{-24}$	1

[1]) Eine wertvolle Ergänzung enthält eine Mitteilung von E. L. Hahn über die heutigen Grenzen mikrochemischen Erkennens und Messens. Forschungen und Fortschritte. VII. Nr. 18. S. 254. 1931.

[2]) Mittleres Molekulargewicht 100.

[3]) Vergl. hierzu S. Dutt, C. 1930 II 3001.

II.

Von einer qualitativen Mikroanalyse kann man insofern seit langer Zeit sprechen, als das Mikroskop schon durch MARGGRAF im 18. Jahrhundert zu chemischen Zwecken herangezogen worden ist. Freilich war die Anwendung dieses Instruments eine seltene, und auch die Untersuchungen zahlreicher Forscher, wie TEICHMANN, HELWIG, HARTUNG, WORMLEY, BOŘICKÝ, REINSCH, STRENG, O. LEHMANN, K. HAUSHOFER und anderer, vermochten bei der Mehrzahl der Chemiker kein weitergehendes Interesse für diese Arbeitsweisen zu erwecken. Erst THEODOR HEINRICH BEHRENS* (Abb. 4), dessen erste Arbeiten um 1880 erschienen, gelang es, das gedachte Interesse wachzurufen. BEHRENS trachtet z. B., durch Einführung eines Körnchens Reagens in den auf dem Objektträger befindlichen Tropfen Kristallfällungen zu erzielen, wofür einige einfache Beispiele* (nämlich Kalium-Kupferbleinitrit, Silberbichromat und Cäsiumchlorostibit) vorgeführt seien (vgl. die Abb. 5, 6, 7). In diesem Zusammenhang bedeutet bei BEHRENS

Prof. H. Behrens.

Abb. 4. Prof. H. Behrens.

das Wort „Mikrochemie“ eine Abkürzung für „Analytische Chemie unter besonderer Anwendung des Mikroskops“[3a]).

Obwohl nicht in den Rahmen meines Berichtes gehörend, sei doch hier hervorgehoben, daß zu Behrens' Zeiten auch schon

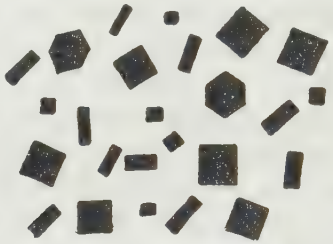


Abb. 5. Kaliumkupferbleinitrit.

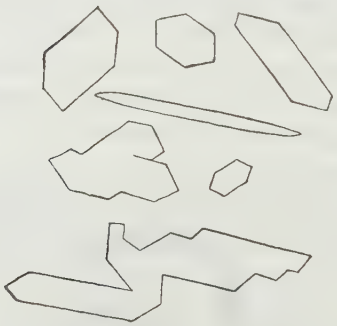


Abb. 6. Silberbichromat.

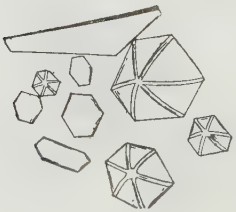


Abb. 7. Cäsiumchloroantimonit.

Botaniker und Mineralogen eifrig mikrochemische Studien betrieben, ist doch die „Histochemie der pflanzlichen Genußmittel“ von Hans Molisch schon im Jahre 1891 erschienen; rund zwei Dezennien später hat derselbe Meister die erste Auflage seiner „Mikrochemie der Pflanze“ herausgegeben.

[3a]) Besonders zu erwähnen sind hier die Veröffentlichungen aus der Schule E. M. Chamot.

Um einige weitere qualitative Arbeitsweisen zu skizzieren, mögen folgende Hinweise genügen:

1. Sehr nützlich ist in vielen Fällen das Durchmustern des Prüfungsobjekts unter dem Mikroskop, wobei namentlich ein binokulares Instrument gute Dienste leistet. Man kann dabei z. B. einzelne Bestandteile aus Pulvern auslesen (mechanische Analyse) und auch eventuell polarisiertes und ultraviolettes Licht anwenden, wobei auf die HAITINGER'sche Anordnung aufmerksam gemacht sei.

2. Eine große Zahl von zum Teil schon von BEHRENS benützten

Abb. 8. Kapillarer Heber.

Arbeitsweisen betrifft die Niederschlagsbehandlung; besonders einfach ist das Arbeiten mit dem kapillaren Heber[4])* (Abb. 8).

3. Ein umfangreiches Kapitel bilden die Destillations- und Sublimationsmethoden, in welches Kapitel auch unsere Mikrosiedepunktsbestimmungen und -fraktionierungen einzureihen sind. Wir sehen: a) das Fraktionierröhrchen*; b) die Siedepunktkapillare*; c) das Fraktionierkölbchen* (vgl. die Abb. 9, 10, 11).

[4]) Viele Abbildungen sind meinem Mikrochemischen Praktikum (München 1931) entnommen.

4. Für Zwecke der qualitativen Elektrolyse dienen unter anderem elektrolytische Objektträger; eine neuere Form, die z. B. den Nachweis von 10^{-9} g Cu gestattet, ist im Kongreßheft der „Mikrochemie“ von meinem Mitarbeiter BRENNEIS beschrieben.

Abb. 9. Fraktionierröhrchen.

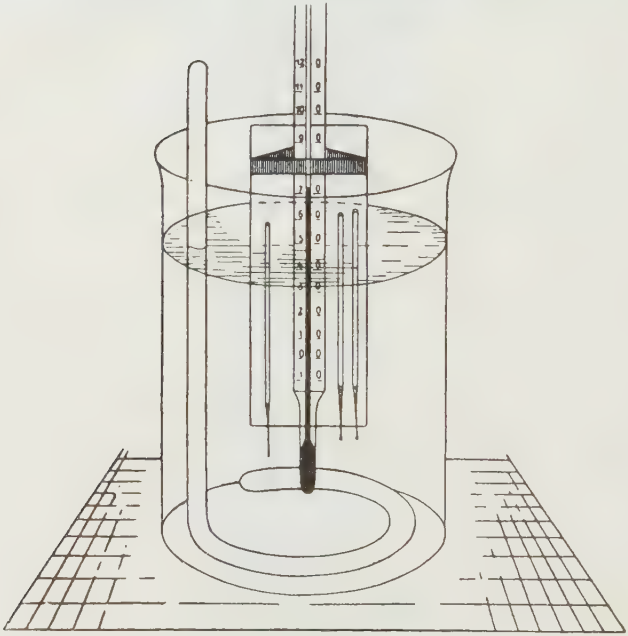


Abb. 10. Siedepunktkapillaren.

5. Eine mehrfach durchgearbeitete, ältere Technik betrifft die gefärbten und imprägnierten Fasern, z. B. die Lackmusseide, den Sulfidfaden und andere.

6. Um gewisse Nachteile auszuschalten, die das Arbeiten auf dem Objektträger mit sich bringt, benutzen wir vielfach Kapillarröhrchen, die eventuell zugeschmolzen werden. Sie leisten z. B. gute Dienste beim Umkristallisieren* (Abb. 12), ebenso, wenn unter höherem Druck (flüssige Kohlensäure) ge-

arbeitet werden muß. Auch bei der Beobachtung von Farbe und Absorptionsspektrum sind (axial durchleuchtete) Kapillarröhren nützlich.

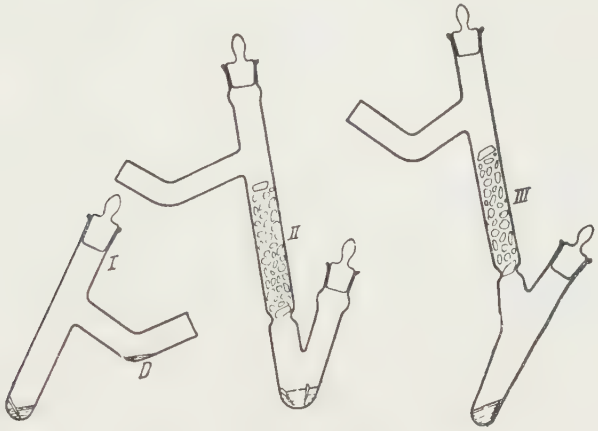


Abb. 11. Fraktionierkölbchen.

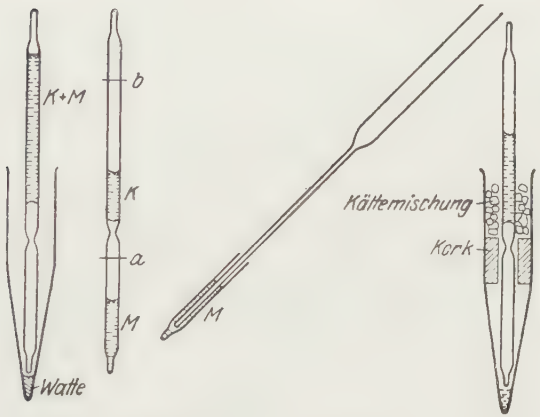


Abb. 12. Umkristallisieren im zugeschmolzenen Röhrchen.

III.

Vielen qualitativen Mikromethoden ist neuestens durch die Feigl'schen Tüpfelreaktionen scharfe Konkurrenz erwachsen. Sie arbeiten schnell, empfindlich und mit den einfachsten Behelfen. Wir sind damit in das Gebiet der Gegenwartsfragen gelangt, bei dem besser auf die Vorträge verwiesen wird, die in der

Fachgruppe für analytische Chemie auf dem Programm stehen. Hierher gehört namentlich die Lehre von den spezifischen und Spezialreaktionen, Gebiete, von denen man sich noch viel versprechen muß und an denen jetzt emsig und erfolgreich gearbeitet wird. Ob wir auf diesem Weg das Ziel, die qualitative Trennung ganz entbehrlich zu machen, erreichen werden, wissen wir heute nicht.

Daß noch in den verschiedensten Richtungen weitgehende Kleinarbeit zu leisten ist, braucht nicht gesagt zu werden, z. B. wäre bei vielen Reaktionen eine Feststellung der Erfassungsgrenzen sehr erwünscht. Ein Thema, das noch wenig bearbeitet ist, betrifft die Grenzflächen zwischen zwei Flüssigkeiten; die sicher vielfach rätselhaften Kräfte, welche in diesem Gebiet zur Geltung kommen, könnten dem Analytiker vermutlich weiter nützlich sein.

C. Quantitativer Teil.

I.

Die quantitative Arbeit läuft bekanntlich in der Regel auf die Bestimmung von Massenverhältnissen hinaus; natürlich ist damit nicht gesagt, daß gerade die Masse selbst immer bestimmt werden müsse, es kann sich ja auch um andere Eigenschaften handeln, die sich quantitativ erfassen lassen und die zu ihr in gesicherter Beziehung stehen.

Man kann gewöhnliche quantitative Bestimmungen unterscheiden und Spurensuche. Bei den ersteren liegen die Bestandteile in vergleichbaren Mengen vor, bei der Spurensuche ist der gefragte Bestandteil in sehr kleiner Menge zugegen.

II. Waagen.

Es gibt bekanntlich eine sehr große Anzahl von Instrumenten, die kleine Massen zu wägen gestatten. Als Nernst vor rund 30 Jahren die bekannten Gasdichtebestimmungen in seinem Iridiumröhrenofen ausführte, war die (Salvioni'sche) Glasfederwaage zwar schon bekannt, der Meister konstruierte sich aber selbst ein Instrumentchen*, dessen leichter Glasbalken auf einem feinen Quarzfaden aufgehängt war. Die Gesamtbelastung kann

man maximal etwa mit einem Dezigramm angeben, das Wägegut darf aber nur einige Milligramm schwer sein; es kann auf etwa ein Tausendstel genau gewogen werden. Wir haben also eine „Gamma-Milligramm-Waage" vor uns.

Die NERNST-Waage ist später mehrfach abgeändert, z. B. auch kleineren Gewichtsmengen angepaßt worden. Jedenfalls hat sie zu vielen Hunderten, vielleicht zu Tausenden von Bestimmungen gedient. Neuestens hat Dr. DONAU eine NERNST-Waage mit aperiodischer Einstellung und proportionalen Ausschlägen erdacht, wodurch sich beim Arbeiten eine erhebliche Zeitersparnis ergibt.

Immerhin ist die Benützung der NERNST-Waage mit einigen Übelständen verknüpft, wobei namentlich die Unmöglichkeit in Betracht kommt, Belastungen von z. B. einigen Gramm anzuwenden.

Es war deshalb ein hervorragendes Verdienst PREGL's, der sich bekanntlich 1910 die Aufgabe stellte, die quantitative organische Elementaranalyse auf kleine Substanzmengen anzuwenden, daß er in der Probierwaage* für Edelmetalle von WILH. H. F. KUHLMANN, die im Jahre 1906 zum erstenmal für mich gebaut wurde, ein Instrument entdeckte, das bei geeigneter Behandlung nicht nur — wie ursprünglich vereinbart — die Hundertstel-, sondern auch die Tausendstelmilligramme angibt.

Und da auch hier das Gute dem Besseren Platz machen mußte, werden seither die Analysen nach dem Zenti- und dem Milligramm-verfahren in der Regel mittels der KUHLMANN-Waage durchgeführt. (Für manche Zwecke, z. B. Serien von Rückstandsbestimmungen, ziehe ich heute noch die NERNST-Waage vor. Auch wird anscheinend oft ganz darauf vergessen, daß das Arbeiten mit kleiner Tara den großen Vorteil mit sich bringt, daß die Gewichtskonstanz außerordentlich leicht zu erreichen ist.) Neuere Erfahrungen mit der KUHLMANN-Waage verdanken wir meinem Mitarbeiter SCHWARZ-BERGKAMPF, BOËTIUS und anderen.

Ein weiteres Vordringen bis zu einer Genauigkeit von 10^{-8} bis 10^{-9} g, also bis zu einem „Nanogramm", liegt durchaus im Bereich des möglichen, denn Waagen von dieser Leistung sind seit Dezennien bekannt; wir brauchen nur auf RAMSAY's Schule, ferner auf die Namen HANS PETTERSSON, STRÖMBERG und andere zu verweisen. Auch in Amerika werden jetzt solche Instrumente ge-

baut, wobei McBain und Tanner an Stelle von geschliffenen Schneiden Carborundumkristallkanten benutzen.

Sehen wir im Sinne des oben Gesagten zunächst vom rein praktischen Standpunkt ab, so muß man sich trotzdem gegenwärtig halten, daß

a) die technischen Schwierigkeiten mit abnehmenden Mengen immer größer werden, und daß

b) chemische Wägungen eine gewisse Einfachheit des Verfahrens verlangen.

Aus diesem letzten Grund benutzt man Vakuumwaagen nicht gern. Auch dürfte z. B. bei den Waagen mit veränderlichem Vakuum (System von Steele und Grant) die veränderliche Oberflächenbeladung eine Fehlerquelle beinhalten. Dazu kommt noch, daß die Vakuumwägung gar nicht notwendig ist, wenn man genügend kleine Objekte anwendet, und große verbieten sich ja ohnedies, weil man bei ihnen die notwendige Gewichts-

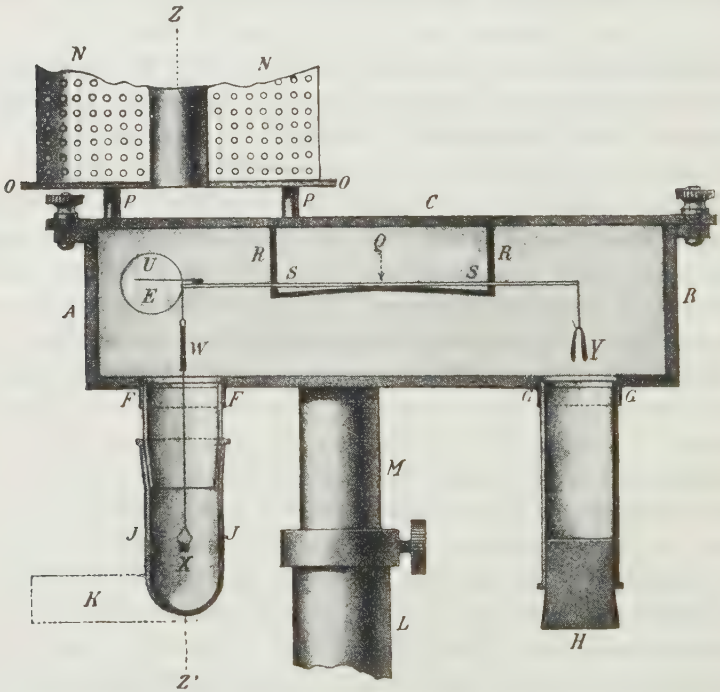


Abb. 13. Elektromagnetische Mikrowaage.

konstanz nicht erreicht, die normalerweise nicht leicht unter 10^{-6} bis 10^{-7} zu bringen ist.

Weiter hat man zu erwägen, welche Maßnahmen zu ergreifen sind, um die Deformation eines genügend leichten Balkens zu verhindern, bezw. unschädlich zu machen. Man hat die Wahl zwischen einer genügend starren Konstruktion (STEELE und GRANT) und einem einfachen geraden Stäbchen, dessen Biegungseffekt durch ein Kompensationsverfahren unschädlich gemacht wird. Diesen Gedanken haben wir bei unserer elektromagnetischen Mikrowaage* (Abb. 13) benutzt[5]). Auch die Frage, ob der auf Schneiden spielende Balken den Vorzug verdient oder der auf Fäden aufgehängte, muß erwogen werden. Wir haben uns vorläufig für den letzteren entschieden und uns hierbei unter anderem auch an die

Jahr	Instrument, Methode	Maximale Belastung	Genauigkeit in g		Zahl der Molekülе*)
			absolut	relativ	
—	Gew. Analysenwaage . .	200	10^{-4}	5×10^{-7}	10^{18}
1912	Projektionsfederwaage .	5×10^{-2}	3×10^{-5}	6×10^{-4}	3×10^{17}
1912	Waage von Hartmann & Braun	6×10^{-3}	5×10^{-6}	8×10^{-4}	5×10^{16}
1906	Kuhlmannwaage	20	10^{-6}	5×10^{-8}	10^{16}
1902	Nernstwaage	10^{-1}	10^{-6}	10^{-5}	10^{16}
1912	Radiumwaage	2×10^{-2}	10^{-8}	5×10^{-7}	10^{14}
1916	Elektromagnetische Waage	5×10^{-3}	5×10^{-9}	10^{-6}	5×10^{13}
1929	Waage von Mc Bain und Tanner	3×10^{-1}	3×10^{-9}	10^{-8}	3×10^{13}
1909	Waage von Steele und Grant	—	10^{-9}	—	10^{13}
1914	Waage von H. Pettersson	2×10^{-1}	2×10^{-10}	10^{-9}	2×10^{12}
1925	Instrument von P. P. Koch	3×10^{-11}	$\sim10^{-13}$	3×10^{-3}	10^{9}
1920	Instrument von Ehrenhaft und Konstantinowsky (Schwebekondensator)	—	$\sim10^{-15}$	—	10^{7}

*) Mittleres Molekulargewicht 100, $N \sim 10^{24}$.

[5]) Wobei unveröffentlichte Untersuchungen von Dr. BENEDETTI-PICHLER zu erwähnen wären. Beschreibung in Abderhaldens Handbuch, Abt. I, T. 3, S. 259 (1921).

einschlägigen Arbeiten von Wilhelm Weber erinnert, die zwar schon 90 Jahre alt, aber, wie es scheint, nicht so bekannt sind, wie sie es verdienen würden[6]).

Anstatt weiterer Auseinandersetzungen bringe ich eine tabellarische Übersicht, die das mit der Waage jeweils beherrschbare Gebiet angibt.

III. Über gewöhnliche quantitative Bestimmungen.

1. An die Waagen schließen sich die Gewichtsanalysen an, wobei vor allem Rückstandsbestimmung und Niederschlagswägung zu unterscheiden ist. Über die erstere Bestimmungsart ist grundsätzlich wenig zu sagen, anzustreben wäre eine möglichst häufige Anwendung dieser Methodik, da sie sich durch größte Einfachheit auszeichnet. Der leider so früh verstorbene Kollege Ludwig Moser hat gezeigt, daß hier noch manch schönes Ergebnis zu finden ist. An dieser Stelle sind auch am besten die quantitativen Elektrolysen einzufügen; sie gehören zu den ältesten Mikroverfahren, wobei die Namen Jänecke, Riesenfeld und viele andere erwähnt werden könnten. Den handlichsten und infolgedessen verbreitetsten Apparat verdanken wir bekanntlich Pregl. Feinere Mikroelektrolysen und Rückstandsbestimmungen sind jüngst von meinem Mitarbeiter Ernst Wiesenberger mit einem Materialaufwand von rund 10 γ ausgeführt worden, also mit Substanzmengen, die die gewöhnliche Analysenwaage überhaupt nicht mehr angibt.

Die Methoden der Niederschlagswägung sind teils adaptierte Makroverfahren, wie die von Pregl verkleinerte Stritar'sche Filterröhrenapparatur, teils besondere Anordnungen, wie sie unsere Stäbchenmethodik benutzt. Die Fällung erfolgt hierbei im Mikrobecher* (Abb. 14), das Trocknen z. B. im Benedetti-Pichler'schen Trockenblock* (Abb. 15). Übrigens hat sich auch Hartung in Melbourne des Verfahrens bedient.

Wir wollen hoffen, daß es auch bei der Niederschlagsbehandlung möglich sein wird, in das Gebiet der oben erwähnten ganz kleinen Materialmengen vorzudringen! Vielleicht hilft ein kürzlich von

[6]) Ges. Werke, Berlin 1892, I, 499.

Dr. DONAU erdachtes Verfahren wenigstens in einzelnen Fällen über die Schwierigkeiten hinweg[7]).

2. Der Fall, daß die Bestimmungsform nicht gewogen, sondern titriert, als Gas gemessen, auf optischem Weg oder sonstwie er-

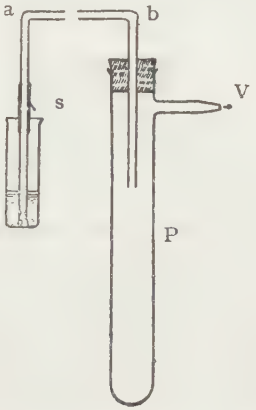


Abb. 14. Filtration mittels des Stäbchens.

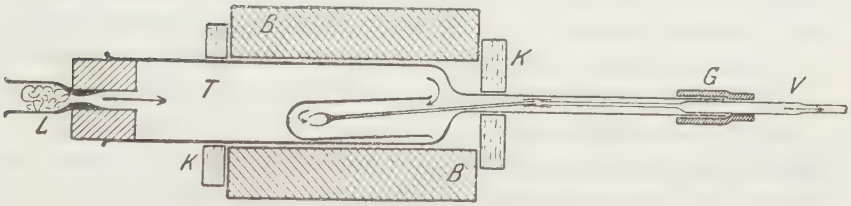


Abb. 15. Benedetti-Pichlers Trockenblock.

mittelt wird, umfaßt eine so große Zahl von Möglichkeiten, daß nur eine kleine Reihe von Beispielen herausgegriffen werden kann.

a) Sehr groß ist die Zahl der maßanalytischen Methoden; man erreicht auch hier leicht eine Genauigkeit von der Größenordnung von 1 γ, das heißt die durch die KUHLMANN-Waage gegebene Grenze. Da die Mehrzahl der Mikromaßanalysen den Zwecken des Organikers und Biologen dienen, sei auf das folgende Referat von LIEB verwiesen. Auf einen Umstand möchte ich aber aufmerksam machen, den ich einer Abhandlung von FRIED-

[7]) Siehe Mikrochemie, **VIII**, 257 (1930).

RICH L. HAHN entnehme. Es ist im allgemeinen nützlicher, mit kleinen Mengen von stärkeren als mit größeren Mengen von verdünnteren Maßflüssigkeiten zu arbeiten. Deshalb mag eine noch wenig bekannte Mikrobürette erwähnt werden, die von meinem Mitarbeiter Dr. S. WERMUTH beschrieben worden ist und z. B. $^1/_{50\,000}$ cm³ abzulesen erlaubt.

Auch potentiometrische Methoden erfreuen sich zunehmender Beliebtheit.

b) Nephelometrische, kolorimetrische und sedimetrische Verfahren sind ebenfalls vielfach im Gebrauch, von den neueren Apparaten sei das Stufenphotometer von PULFRICH erwähnt.

c) Weiter führen wir noch die Methoden der quantitativen Spektralanalyse an, die, allerdings mehr der Physik als der Chemie angehörend, unserem Referat fernliegen, es genüge ein kurzer Hinweis auf die Werke von FRITZ LÖWE, von GERLACH und SCHWEITZER, von LUNDEGÅRDH und anderen.

d) Über Methoden, die sich der mikrometrischen Ausmessung bedienen, folgen später noch Andeutungen.

e) Die gasanalytischen Verfahren gehören bekanntlich seit AUGUST KROGH zu den ältesten Mikromethoden. Später haben sich namentlich DEWAR, RAMSAY, TRAVERS, SODDY und STRUTT mit kleinen Gasmengen befaßt. In jüngster Zeit hat PANETH bewunderungswürdige Erfolge bei der Messung sehr kleiner Heliummengen erzielt. Interessant ist hierbei unter anderem die Meßgenauigkeit, die folgender Zusammenstellung zu entnehmen ist.

Genauigkeit der Messungen in Abhängigkeit von der Heliummenge nach F. PANETH.

Heliummenge in 10^{-6} cm³	Maximaler Fehler in Prozenten
0,007	50
0,05	10
0,5	2
1,0	1,5
10,0	1,0
100,0	1,0

f) Zu den originellsten Methoden der quantitativen Mikroanalyse gehören die radiometrischen Bestimmungen nach Rud. Ehrenberg, die auf dem von Paneth und v. Hevesy eingeführten Prinzip der „radioaktiven Indikatoren" beruhen.

Zu kurzer Erläuterung entnehme ich Ehrenberg's Zusammenstellung, die er für das Abderhaldensche Handbuch verfaßt hat, die folgenden Sätze:

„Die außerordentliche Empfindlichkeit der elektrometrischen Strahlungsmessung macht es möglich, den mikroanalytischen Nachweis bis an die Grenzen zu führen, die durch die Definiertheit des Ausgangsmaterials und die Reinheit der Reagenzien und Gefäße gesetzt werden. Das Bestimmungsverfahren hat außerdem den Vorzug einfacher Handhabung und großer Störungsfreiheit und enthält keine subjektiven Momente wie das Arbeiten mit Indikatorumschlägen, Farbvergleichen usw. Ein weiterer Vorteil ist der Fortfall vieler sonst erforderlicher Operationen im Analysengang, wie Trennungen, Filtrationen usw., und in den meisten Fällen die Durchführung der ganzen Analyse in einem Glase. Außerdem können spezielle Verfahren empirisch ausgearbeitet werden, ohne daß die einzelnen Reaktionen des Analysenganges für sich ganz aufgeklärt zu sein brauchen."

Als Beispiel sei erwähnt, daß Ehrenerg bei einer Zuckerbestimmung $4{,}88 \times 10^{-3}$ mg Glucose in 0,004 cm³ Blut, entsprechend 0,122 mg in 0,1 cm³ Blut, gefunden hatte; denselben Betrag hatte unter Verwendung von 0,1 cm³ Blut die Hagedorn-Jensen-Methode ergeben.

3. Am Schluß dieses Abschnittes heben wir zweierlei hervor. Erstens sei festgestellt, daß eine vor zwei Dezennien ausgesprochene Hoffnung in Erfüllung gegangen ist; die Hoffnung, daß die damals erst vor kurzer Zeit inaugurierten Methoden der quantitativen Mikroanalyse auf grundsätzlich alle Probleme der quantitativen Analyse mit Erfolg ausgedehnt werden mögen[8]). Zweitens will ich die wirtschaftliche Bedeutung der quantitativen Mikroanalyse unterstreichen[9]). Liegt sie auch vorwiegend auf dem Teil, über den Kollege Lieb berichten wird, so müssen wir uns doch auch auf anorganischem Gebiet der Tatsache bewußt sein, daß nicht nur an Material, sondern oft auch erheblich an Zeit und Mühe gespart wird. Die folgende kleine Zusammenstellung veranschaulicht den Zeitaufwand bei einigen Bestimmungen* (Abb. 16).

---

[8]) Chem.-Ztg., **148** (1913).

[9]) Ebenda, **39**, 839 (1915).

Trotz fleißiger bisheriger Arbeit bleibt noch viel zu tun übrig. Zahlreiche Methoden harren der Durcharbeitung auf größerem Anwendungsgebiet, namentlich fehlt es noch vielfach an Trennungsrezepten. Aber auch in mehr methodischer Hinsicht wird sich noch vieles finden lassen. Vielleicht könnten die Multiplikationsverfahren durchgeprüft werden, worunter man Methoden ver-

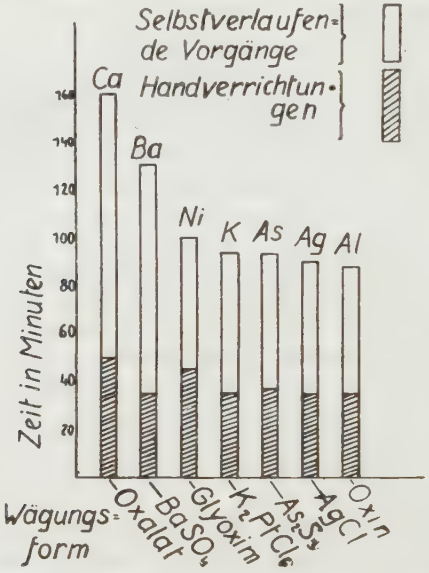


Abb. 16. Zeitaufwand bei einigen quantitativen Bestimmungen, zusammengestellt von H. Alber.

stehen kann, bei denen z. B. besonders schwere Niederschläge von der Art des leider nicht ganz konstant zusammengesetzten phosphormolybdänsauren Ammoniums gewogen werden. Ein analoger Fall liegt vor, wenn z. B. ein zu bestimmendes Metall in Säure aufgelöst und der entwickelte Wasserstoff gemessen wird.

IV. Spurensuche.

Unter Spurensuche wird bekanntlich die Ermittlung eines in sehr kleiner Menge vorhandenen Bestandteiles verstanden. Aber, was ist „sehr klein"? Diesmal sind Zahlenangaben, auf die wir sonst den größten Wert legen, leider nicht möglich, da die Schwierigkeit der Trennung den einzigen Maßstab darstellt. Diese Schwierigkeit hängt aber von der Verschiedenheit der Eigenschaften ab.

Stellen wir die Trennung der Isotopen auf die eine Seite, die Trennung eines leichtflüchtigen oder sehr schwer löslichen Gemengteiles von einem schwerflüchtigen oder leichtlöslichen auf die andere Seite, so ist der Kontrast offenkundig.

In allgemeiner Hinsicht darf bemerkt werden, daß man bei der Spurensuche oft einen „Spurenfänger" benutzt. So können wir ein Reagens benennen, das die fragliche Spur an sich reißt und damit Auffindung und Bestimmung erleichtert. In Wahrheit kommt es natürlich stets auf ein Differenzverfahren hinaus, da eine absolute Sicherheit nicht besteht, daß der Spurenfänger wirklich von vornherein frei von der Spur ist. Auch läßt sich kaum entscheiden, ob das Trennungsverfahren in gleicher Weise funktioniert, wenn die Spur einmal zugegen ist und einmal nicht. Natürlich kommt diesen Gedanken praktisch dann keine Bedeutung zu, wenn die Methodik, wie dies bei der gleich zu erwähnenden Goldspurensuche gilt, durch eine genügende Zahl von Kontrollversuchen unter weitgehender Variation der Versuchsbedingungen geprüft worden ist.

Zu den Schulbeispielen für die Spurensuche gehören die Untersuchungen von Fritz Haber über das Gold, von Lunde über verschiedene Edelmetalle, von Stock über Quecksilber, von Paneth über Helium, von v. Fellenberg, Lunde, Scharrer u. a. über das Jod. Wir müssen es uns versagen, den sinnreichen Kombinationen von Makro- und Mikroarbeit nachzugehen, die die genannten Forscher eingeschlagen haben. Die Edelmetalle werden — mit Blei als Spurenfänger — nach dem Abtreiben des letzteren zu Kügelchen geschmolzen, deren Masse man — ebenso wie beim Quecksilber — durch mikrometrische Messung ermittelt. Dieses Meßverfahren rührt bekanntlich von dem Heidelberger Mineralogen Victor Goldschmidt her, der damit im Jahre 1877 wohl die ersten quantitativen Mikrobestimmungen ausgeführt hat. Aus dem, wie gesagt, sehr bedeutenden und, wie ich glaube, ziemlich allgemein bekannten Material der Haber'schen Untersuchungen vielleicht nur das Hauptresultat: daß der Goldgehalt des Meerwassers weit geringer ist, als man bis dahin meinte; er bewegt sich z. B. um 10 γ im Kubikmeter. Wenn wir bedenken, daß diese Feststellung unter Anwendung von zwei Liter Wasser mög-

lich ist, so erkennen wir die Notwendigkeit und die Leistungsfähigkeit der Mikromethodik, denn wie viele Tonnen Wassers müßten verarbeitet werden, wollten wir etwa das Gold auf der gewöhnlichen Analysenwaage wägen! Nebenbei bemerkt ist die obige Zahl ein Durchschnittswert für das offene Meer; im Polareis und auch in gelegentlichen Proben von Oberflächenwasser wurden auch erheblich größere Goldmengen gefunden, z. B. 2 bis 8 mg pro Tonne. Bemerkenswert ist die große Genauigkeit der HABER'schen Messungen von etwa 15×10^{-10} g entsprechend 5×10^{12} Goldatomen.

Der Spurensuche kommt eine besondere Bedeutung insofern zu, als die auf diesem Gebiete gewonnenen Erfahrungen wesentlich zur Vertiefung unserer allgemeinen Einstellung beigetragen haben, wobei auch noch z. B. auf die Arbeiten von LUCAS und GRASSNER, von FEIGL, NIESSNER u. v. a. hinzuweisen ist. Nicht nur der Techniker, sondern auch der Biologe erscheint an diesen Fragen hervorragend interessiert. Die auswählenden Fähigkeiten der Organismen gegenüber einzelnen Elementen sind allgemein bekannt. So wie die Tange Jod speichern, könnten andere Elemente von anderen Organismen gespeichert werden. Bei systematischer Durcharbeitung des Gebiets würden sich vielleicht schöne Möglichkeiten für die Anwendung in der Analyse ergeben. Das wäre eine herrliche Revanche des Biologen dem Mikroanalytiker gegenüber.

Mit großer Hartnäckigkeit wird man im Laboratorium von K u p f e r s p u r e n verfolgt. Es ist uns z. B. bisher nicht möglich gewesen, ein kupferfreies, destilliertes Wasser herzustellen. Ob daran der Laboratoriumsstaub (den wir natürlich tunlichst ferngehalten haben) oder flüchtige Kupferverbindungen die Schuld tragen, ist noch nicht entschieden. Wir haben uns bemüht, die Kupferspuren durch langsames Vorbeiführen an Elektroden abzuscheiden: das niedergeschlagene (unsichtbare) Kupfer wurde hierauf durch Umpolen auf eine Mikroelektrode übertragen.

Überschauen wir das Gebiet der Spurensuche, so fällt die reiche Mannigfaltigkeit der Methoden auf: VON HEVESY hat mittels des Röntgenspektroskops e i n e n Teil Kupfer in 300.000 Teilen Zink nachgewiesen oder einen Teil Niob oder Tantal in 10,000.000 Teilen Gestein. „Es wäre hoffnungslos, solche Spuren auf dem Wege der chemischen Analyse zu suchen.“ Und dabei ist eine Genauigkeit

von einem Prozent erreicht worden. Oder PANETH hat Helium, das mit dem billionenfachen Volumen Wasserstoff gemengt war, von diesem mittels Palladium getrennt, das als quasi-auswählendes Filter diente. Und wieder in anderen Versuchsreihen ermittelte auch PANETH das Neon-Helium-Verhältnis nach dem (technischen) Verfahren von PIRANI-STERN auf dem Wege der Bestimmung des Wärmeleitvermögens, wobei bei einem Druck von 6×10^{-6} mm Hg Gasmengen von 10^{-5} cm³ zur Anwendung gelangten. Wo schon soviel Gedankenreichtum vorliegt, können wir bestimmt erwarten, daß uns die Zukunft noch vieles bringen wird.

Vielleicht ist es aussichtsvoll, die Spurenfänger möglichst zu variieren? Viele Arbeiten, welche aufzuzählen der Mangel an Raum verbietet, z. B. die über Adsorption, ermutigen hierzu. Eine besondere Art von Spurennachweis bilden die Verstärkungsmethoden, bei denen Keimwirkungen angewandt werden. So hat z. B. mein Mitarbeiter Dr. SCHEUCHER unsichtbare Spiegel von Arsen, Antimon und Wismut mittels einer Art photographischen Entwicklers sichtbar gemacht. Die Methodik gestattet vielleicht mancherlei Variationen.

D. Schluß.

Unser Bild von der Mikroarbeit wäre unvollständig, wenn wir nicht mit einem Wort auf die Bedeutung der mikrochemischen Technik für den Unterricht eingehen würden; und zwar gewinnt der Empfangende sowohl wie der Gebende.

Selbst wenn man davon absieht, daß sich heute viele Probleme ohne Beherrschung der Mikromethoden überhaupt nicht lösen lassen, sind Versuche im kleinen Maßstab für den Studierenden nützlich, denn er lernt ganz besonders sauber arbeiten, sorgfältig dosieren, aufmerksam beobachten und sparsam mit dem Material umgehen. Auch hat er Gelegenheit, sich mancherlei Fertigkeiten anzueignen, die ihm bei der gewöhnlichen Laboratoriumsarbeit zustatten kommen. Aber auch für den Dozenten sind mikrochemische Versuche von Wert. Manche Experimente packen durch ihre Schönheit und Eigenart, wie die über flüssige Kristalle, andere bringen die Vorliebe der Materie für den kristallinen Zustand eindrucksvoll zur Geltung, wie die über BEHRENS'sche Kristallfällungen, wieder andere überraschen durch die Schnellig-

keit der Ausführung, so die mit der Projektionsfederwaage oder manche organische Reaktionen, endlich ist das Arbeiten mit explosivem Material oder unter hohem Druck wegen Gefahrlosigkeit zu empfehlen.

In diesem Vortrage glaube ich nicht grau in grau gemalt zu haben und nicht mit schreienden Farben, sondern so, wie ich die Dinge sehe. Aber, hat man nicht oft die Wahl zwischen einem helleren und einem dunkleren Ton? In einem solchen Falle habe ich den helleren gewählt; wer werben will, muß Optimist sein.

Ich würde meine Aufgabe wesentlich als erfüllt betrachten, wenn das Bild, das hier entworfen wurde, einem oder dem anderen Fachgenossen Anlaß geben würde, sich selbst näher in der mikrochemischen Landschaft umzusehen.

Entwicklung und Fortschritte der quantitativen organischen Mikroanalyse.

Von **Hans Lieb.**

Medizinisch-chemisches Institut der Universität Graz.

Wenn mir die Ehre zuteil wurde, in diesem großen Kreise von Fachvertretern das Wort zu ergreifen, so drängt es mich, zunächst des Forschers zu gedenken, der ursprünglich ausersehen war, an dieser Stelle heute vorzutragen. Ein unerbittliches Geschick hat uns Fritz Pregl allzufrüh im Dezember vorigen Jahres für immer entrissen. Da ich vermute, daß er als Thema für die Hauptversammlung des Vereines Deutscher Chemiker die Entwicklung und die Fortschritte der quantitativen organischen Mikroanalyse gewählt hätte, sei es mir gestattet, zum Gedenken an den Bahnbrecher auf diesem Arbeitsgebiete ebenfalls dieses Thema zu behandeln und zunächst einen kurzen Rückblick auf die Entwicklung der Mikroelementaranalyse zu werfen.

Drei Momente waren es wohl, die Pregl im Jahre 1910 veranlaßten, Versuche anzustellen, die Substanzeinwaage für die Elementaranalyse wenigstens um eine Zehnerpotenz herabzudrücken: erstens um an wertvollem Material bei seinen Gallensäurearbeiten zu sparen, besonders als er ein Abbauprodukt der Cholsäure, die

Choloidansäure, nur in außerordentlich geringer Menge gewinnen konnte; weiters zeigte PREGL seit jeher besondere Vorliebe für methodische Arbeiten, und nicht zuletzt bestärkten ihn in seinem Entschluß die schönen Erfolge, die FR. EMICH im damaligen Zeitpunkte in der Mikroanalyse bereits erzielt hatte. Die Annahme, daß er gewissermaßen durch Verschiebung des Dezimalpunktes auch bei allen Apparaten und Reagenzien das angestrebte Ziel erreichen könne, erwies sich als trügerisch; denn mit der Verkleinerung der Substanzeinwaage stellten sich Einflüsse ein, die die Analysenergebnisse in ganz bedeutender Weise störten, obwohl sie in der Makroanalyse ohne Bedeutung waren und daher vielfach nicht erkannt wurden. In langwierigen, mühevollen Versuchen gelang es PREGL, schließlich die Schwierigkeiten zu überwinden, daß mit 5 bis 10 mg Einwaage Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungen mit der in der Makroanalyse üblichen Genauigkeit durchgeführt werden konnten. Dabei schlug PREGL insoferne einen ganz neuen Weg ein, als er eine Vorrichtung, den sogenannten Quecksilbergasometer, einführte, um die aus den Absorptionsapparaten austretenden Gase nach vollendeter erster Verbrennung noch einmal durch das glühende Verbrennungsrohr zu schicken und allenfalls unverbrannte, gasförmige Produkte der völligen Oxydation zuzuführen. Gleichzeitig hat er damit ein Mittel gegeben, um die Gleichmäßigkeit der Verbrennung zu beurteilen und den Gasstrom zu regeln. Zur Absorption der Verbrennungsprodukte bediente er sich schon damals leicht zu reinigender röhrenförmiger Apparate aus dünnem Glas unter Vermeidung komplizierter Oberflächen. Zur Absorption des Wassers wurde das Röhrchen mit Chlorcalcium, zur Absorption des Kohlendioxyds mit 50%iger, auf Glaswolle aufgesaugter Kalilauge gefüllt. Da diese Apparate noch einen sogenannten Absorptionsgang aufwiesen, das heißt beim Liegen neben der Waage allmählich schwerer wurden, änderte er diese bald derart ab, daß der Zutritt feuchter Luft zu den Absorptionsmitteln in den bei der Bestimmung in Betracht kommenden Zeiten fast völlig ausgeschlossen war. Dies wurde erreicht durch Anbringen von Vorkammern und kapillaren Verengungen der Ansatzröhrchen. Solche Röhrchen zeigen bei konstanter Temperatur genügend lange Zeit konstantes Gewicht. An dieser Form der Absorptionsapparate hielt PREGL im Prinzip auch

später fest. Nur ersetzte er die Kalilauge sehr bald durch den viel handlicheren Natronkalk und versah die Röhrchen zwecks Erneuerung der Füllung mit eingeschliffenen, einkittbaren, gläsernen Hohlstöpseln, die gleichzeitig als Vorkammern dienten. Dem naheliegenden Gedanken, die Absorptionsröhrchen mit drehbaren Hähnen zu versehen und sie so nach Beendigung einer Analyse gegen die Außenluft zu verschließen, lehnte er deshalb ab, weil er damit andere Fehlerquellen auftauchen sah, nämlich die Schwierigkeit des Abwischens und die Gefahr, Hahnspeise beim Drehen der Hähne zu verlieren.

So wertvoll und praktisch die Verwendung des Quecksilbergasometers auf den ersten Blick erscheint, so mußte sich PREGL bald davon überzeugen, daß dieser Apparat einerseits schwierig zu handhaben ist, anderseits manche Fehlerquellen in sich birgt. Die Einführung der neuen Absorptionsapparate mit den vielen kapillaren Verengungen brachte es jedoch mit sich, daß nun dem Gasstrom ein erheblicher Widerstand entgegengesetzt war, was die Gefahr eines Druckanstieges im Verbrennungssystem mit sich brachte und damit auch die Möglichkeit, Verbrennungsprodukte an den Stellen zu verlieren, wo die Apparate durch Gummischlauchverbindungen miteinander verbunden sind. Um diesen Widerstand im System überwinden zu helfen und den Gasstrom bequemer regulieren zu können, führte er in der Folgezeit statt des Quecksilbergasometers die Mariottesche Flasche ein, mit der entsprechende Saugwirkung erzielt werden kann. Auf der Seite des Gaseintrittes in das System brachte er jetzt den Druckregler an, der es ermöglicht, den Gasstrom unter bestimmtem Druck in das Verbrennungsrohr eintreten zu lassen. Durch diese zwei Einrichtungen, Druckregler auf der einen, Mariottesche Flasche auf der anderen Seite, erzielte PREGL den außerordentlichen Vorteil, daß jede beliebige Gasgeschwindigkeit eingestellt werden kann. Nachdem er weiter die für die Verbrennung günstigste Gasgeschwindigkeit experimentell festgestellt hatte, waren damit die ganz willkürlichen Ausdrücke „schneller und langsamer Gasstrom" ein für allemal beseitigt. Schließlich schuf er durch entsprechende Wahl und Anordnung der Oxydationsmittel eine Universalfüllung des Verbrennungsrohres, die allen Ansprüchen genügt, gleichgültig welche Elemente am Aufbau der

zu analysierenden Substanz beteiligt sind. Es ist dies die Füllung des Rohres mit einer Kupferoxyd-Bleichromatmischung zwischen zwei kurzen Silberschichten, und ferner Bleisuperoxyd, das in einem besonderen zylindrischen Hohlkörper, der sogenannten Hohlgranate, auf konstante Temperatur erhitzt wird. In dieser Richtung hat sich bis heute kaum irgendwo das Bedürfnis oder der Wunsch ergeben, Änderungen vorzunehmen. Alle diese Ergebnisse waren bis zum Jahre 1916 erzielt und damit eine Methode zur Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs mit Einwaagen von nur 3 bis 5 mg erreicht, die weitgehenden Ansprüchen genügte und die sich im allgemeinen auch bis zum heutigen Tage bewährt hat. Bevor ich auf weitere Fortschritte bei der Kohlenstoff-Wasserstoff-Bestimmung näher eingehe, will ich die Entwicklung der Bestimmung der übrigen Elemente in organischen Verbindungen besprechen.

Auch für die Mikrobestimmung des Stickstoffs auf gasvolumetrischem Wege nach dem Prinzipe von DUMAS hielt sich PREGL in seinen ersten Versuchen ziemlich genau an die Verhältnisse bei der Makrobestimmung und benutzte zunächst ein einseitig geschlossenes Verbrennungsrohr mit Magnesit zur Erzeugung von Kohlendioxyd. Bald aber ging er dazu über, die Kohlensäure einem Kippschen Apparat zu entnehmen, wobei er zur Erzielung eines luftfreien Gases besondere Maßnahmen treffen mußte. In erster Linie konnte er feststellen, daß nicht so sehr der Marmor für den Luftgehalt des Kohlendioxyds verantwortlich zu machen ist, sondern vielmehr die Salzsäure, die die Bestandteile der Luft gelöst enthält. Durch Entwicklung von Kohlendioxyd mußte die Säure entlüftet werden, um sie für die Zwecke der Mikrobestimmung brauchbar zu machen. Zum Auffangen des Stickstoffs konstruierte PREGL zunächst ein Azotometer mit einem Meßbereich von 2,5 ccm. An der in $^1/_{20}$ ccm geteilten Meßröhre konnte man 0,01 ccm noch sicher schätzen. Schon damals fand er, daß die für die Füllung des Azotometers erforderliche 50%ige Kalilauge einer Vorbehandlung mit Bariumhydroxyd unterzogen werden muß, um sie absolut schaumfrei zu machen, da sonst eine Ablesung des Gasvolumens in der engen Meßröhre nicht möglich gewesen wäre. Die Füllung des Verbrennungsrohres entsprach etwa der in der Makroanalyse üblichen mit endständiger

reduzierter Kupferspirale. Die Methode lieferte jedoch Gasvolumina, die stets um 10% zu hoch, jedoch unter Einhaltung einer bestimmten Gasstrom- und Verbrennungsgeschwindigkeit konstant waren. Von diesem Plus von 10% entfielen, wie PREGL bald darauf feststellte, auf die die Glasröhre benetzende Kalilauge rund 2%, so daß 8% auf eine Gasbeimischung, größtenteils Kohlenoxyd, entfielen. Die Bestimmung war in 15 bis 20 Minuten durchführbar. PREGL bezeichnete diese seine erste Methode daher auch als empirische Schnellmethode. Sie hätte in dieser Form wohl kaum weitere Verbreitung gefunden.

Sein Streben ging daher dahin, eine exakte Mikromethode auszuarbeiten. Hierfür schuf er zunächst ein genaueres Azotometer, das bei einem Meßbereich von 1,2 bis 1,5 ccm in hundertstel Kubikzentimeter geteilt ist und noch tausendstel Kubikzentimeter abzuschätzen gestattet. Ferner verlängerte er die Kupferoxydschicht und verlegte das reduzierte Kupfer mitten zwischen zwei Schichten von Kupferoxyd an die heißeste Stelle des Rohres. Durch diese Maßnahmen erreichte er, daß unter Einhaltung einer genau definierten Stromgeschwindigkeit und bei richtiger Behandlung des Kippschen Apparats mit Substanzeinwaagen von nur 2 bis 4 mg exakte Analysenergebnisse bei einem Zeitaufwand von 30 bis 40 Minuten zu erzielen sind. Damit hatte PREGL eine Methode geschaffen, die außerhalb des Bereiches etwa sich kompensierender Fehler einzig und allein den elementaren Stickstoff zur Messung bringt. Die Methode ist jedoch nicht nur rascher durchführbar als eine Makrobestimmung, sondern, wie die Erfahrung zeigte, auch leichter erlernbar. Obwohl sich gerade diese Mikromethode in vieltausendfachen Versuchen in den verschiedensten Hochschulinstituten und auch in Industrielaboratorien bis zum heutigen Tage glänzend bewährt und kaum zu einer Änderung in der Anordnung der Apparatur Anlaß gegeben hat, sind doch Verbesserungsvorschläge und Abänderungswünsche erhoben worden. Diese betreffen in erster Linie die Rohrfüllung und den Kohlensäureentwickler. I. DUBSKY hat im Jahre 1917 ein Verfahren angegeben, bei dem er sich im Gegensatz zu PREGL wieder der endständigen Kupferspirale bedient und den Kippschen Apparat durch ein Bicarbonatröhrchen ersetzt. Diese letztere Anordnung, die schon W. BRUN-

NER im Jahre 1914 vorschlug und mit Erfolg anwendete, ist sicher sehr brauchbar und besonders dort zu empfehlen, wo nur einzelne Stickstoffbestimmungen ausgeführt werden. In kontinuierlichem Betrieb bewährte sie sich weniger. Die Frage der Lage der reduzierten Kupferspirale wurde in den letzten Jahren von mehreren Seiten studiert. BÖCK und BEAUCOURT haben in einer gründlichen Untersuchung noch einmal das ganze Problem experimentell geprüft. Sie studierten die Herkunft der Restgase nach völliger Absorption der Kohlensäure und kommen zum Schluß, daß Versuchsergebnisse unter extremsten Bedingungen im Vereine mit theoretischen Erwägungen es wünschenswert erscheinen lassen, die reduzierte Kupferschicht ins Innere des Rohres zwischen zwei Kupferoxydschichten zu verlegen, zumal keine wie immer gearteten, gegenteiligen Gründe von wesentlicher Bedeutung bekannt geworden sind. Auch HERNLER weist 1929 darauf hin, daß die Verlegung der Kupferspirale in die Spitze des Verbrennungsrohres sich in seinen Versuchen ungünstig auf die Analysenresultate ausgewirkt habe. An dieser experimentell festgestellten und durch tausendfältige Erfahrungen bestätigten Erkenntnis ändert sich auch dadurch nichts, daß HALLER in seinen Bemerkungen zur Stickstoffbestimmung nach DUMAS-PREGL, worin er die Verhältnisse vom Standpunkt der dabei in Betracht kommenden Gleichgewichte im Verbrennungsrohr theoretisch erörtert, zum Schlusse kommt, daß die PREGL'sche Anordnung des Kupferoxyds keine unbedingt erforderlichen Sicherheitsmaßnahmen darstelle. Bei völliger Anerkennung aller theoretischen Betrachtungen HALLER's hat sie für die Praxis der Mikrostoffbestimmung nach PREGL keine Bedeutung, solange die Erfahrung die Richtigkeit dieser Versuchsanordnung beweist, und dafür liegen heute aus den verschiedensten Laboratorien gründliche Überprüfungen vor. Diese Erörterungen brachten jedoch Klarheit über die Ursache der gelegentlich auftretenden Restgase und damit der manchmal zu hohen Resultate. Diese Restgase sind in erster Linie auf Einschlüsse in den Hohlräumen des groben drahtförmigen Kupferoxyds zurückzuführen, die in der Kälte nicht vollständig entfernt werden können und zu deren Entfernung verschiedene Maßnahmen getroffen werden können. Man kann entweder nach einem Vorschlage FLASCHENTRÄGER's die bewegliche Füllung des

groben Kupferoxyds für eine größere Reihe von Analysen im Verbrennungsrohre belassen oder das drahtförmige Kupferoxyd unter mehrmaligem Evakuieren des Gefäßes ausglühen und in einer Kohlendioxydatmosphäre erkalten lassen (Berl, Shintaro Ogawa, Hernler).

In zweiter Linie wurden verschiedene Abänderungsvorschläge für den Kippschen Apparat gemacht. So entwickelt Schöller das Kohlendioxyd aus geschmolzenem Kalium-Natriumcarbonat mit ausgekochter verdünnter Schwefelsäure, die man im Kohlendioxydstrom erkalten lassen muß. Für Laboratorien, in denen Stickstoffbestimmungen nicht in kontinuierlichem Betrieb durchgeführt werden, hat der gewöhnliche Kippsche Apparat den Nachteil, daß durch die ständige Berührung der Salzsäure in der oberen Kugel mit der Luft Stickstoff in den bereits völlig entlüfteten Apparat gelangt. Das läßt sich nach einem Vorschlage von F. Hein vermeiden, indem man einerseits ein Frittenventil mit Quecksilber auf die obere Kugel aufsetzt, so daß Gas wohl aus der oberen Kugel austreten, aber keine Luft eintreten kann. Anderseits ist der Gasraum der mittleren Kugel mit der oberen durch eine Rohrleitung, in die ebenfalls ein Frittenventil und ein Glashahn eingebaut ist, verbunden. Andere Abänderungen an der Originalapparatur für die gasvolumetrische Bestimmung nach Pregl sind mehr nebensächlicher Art.

Die Mikrobestimmung des Stickstoffs nach dem Prinzip von Kjeldahl durch Überführung in Ammoniak und Messung des letzteren wurde im Laufe der letzten 20 Jahre von zahlreichen Autoren unter Benutzung der verschiedensten Arbeitsweisen behandelt und hat allenthalben nicht nur in chemischen, sondern insbesondere auch in klinischen Laboratorien Eingang gefunden. Bezüglich der Umwandlung in Ammoniak sind wohl keine großen Abweichungen festzustellen. Die Verbrennung der organischen Substanz erfolgt mit Schwefelsäure unter Zusatz von Kaliumsulfat und Kupfersulfat oder Quecksilbersulfat und zur Beschleunigung der Oxydation wird auch häufig reinstes Perhydrol angewendet. Die Bestimmung des Ammoniaks wird meist durch Destillation mit Lauge aus den Verbrennungsprodukten durchgeführt, wobei verschiedene Destillationsverfahren Anwendung finden. Als erster hat wohl Fr. Pilch in Emich's Laboratorium unter dessen Lei-

tung schon im Jahre 1910 solche Bestimmungen mit Substanzmengen von 0,5 bis 2 mg ausgeführt. Dabei wurde das Ammoniak aus einem Erlenmeyer-Kölbchen unter Verwendung eines Kühlrohres aus Platin in $^1/_{100}$ n-Salzsäure übergetrieben und mit $^1/_{100}$ n-Natronlauge unter Verwendung von Jodeosin als Indikator titriert. Die Ergebnisse waren sehr befriedigend. Bald darauf hat auch PREGL ein Verfahren mit Einwaagen von etwa 5 mg ausgearbeitet, bei dem das Ammoniak direkt aus dem Zersetzungskölbchen mit Wasserdampf in $^1/_{70}$ n-Salzsäure übergetrieben wurde. Die überschüssige Säure wurde mit $^1/_{70}$ n-Natronlauge unter Verwendung von Methylrot als Indikator zurücktitriert. Später hat PREGL die Destillationseinrichtung etwas modifiziert und schließlich die äußerst leistungsfähige Einrichtung von PARNAS und WAGNER mit einigen Abänderungen übernommen, die wohl kaum noch den Wunsch nach Verbesserungen aufkommen lassen wird. Das Kühlrohr besteht dabei aus Silber oder Quarz. Als Maßflüssigkeit dienen $^1/_{100}$ n-Lösungen. Die Zersetzung der organischen Substanz dauert bei dieser Bestimmung meist nur etwa zehn Minuten; das Ammoniak läßt sich in längstens fünf Minuten mittels des Dampfstromes übertreiben. Bei der etwas später veröffentlichten Mikrobestimmung von IVAR BANG wird das Ammoniak ebenfalls mit Wasserdampf aus den Zersetzungskölbchen in $^1/_{200}$ n-Salzsäure übergetrieben und die überschüssige Salzsäure auf jodometrischem Wege nach Zusatz von Kaliumjodid und Kaliumjodat mittels $^1/_{200}$ n-Thiosulfatlösung titriert. Auf die Methode, die das NH_3 kolorimetrisch mit Nesslers Reagens bestimmt, weise ich nur hin.

Die ersten Bestimmungen von Halogen und Schwefel mit 1 bis 3 mg organischer Substanz führten EMICH und DONAU im Jahre 1909 aus. Dabei wurde die Substanz nach dem Verfahren von Carius mit Salpetersäure in etwa 10 cm lange Einschmelzröhrchen von nur 2 mm Lumen durch Erhitzen in einem Schwefelsäurebad auf etwa 300 Grad oxydiert. DONAU hat dieses Verfahren später ein wenig abgeändert, indem er etwas anders geformte Mikrobomben benutzt und sie in einem Kupferblock erhitzte. Auch PREGL wandte dieses Prinzip schon im Jahre 1910 an, wobei er die Niederschläge in einem Mikro-Gooch-Tiegel aus Platin sammelte und für die Schwefelbestimmung den Zusatz von $BaCl_2$ bei der

Oxydation als unbedingt erforderlich erklärte, ging aber dann zu einem neuen Weg über. Er verbrennt die organische Substanz in einem Verbrennungsrohr im Sauerstoffstrom mit Platinsternen als Kontaktsubstanz und absorbiert bei halogenhaltigen Stoffen das frei gewordene Halogen in einem an das Verbrennungsrohr angeschmolzenen Rohrteil, dessen Glas- oder Porzellanperlenfüllung mit sulfithaltiger Sodalösung benetzt ist, und bestimmt es als Halogensilber gravimetrisch. Zum Sammeln des Niederschlages konstruierte er das äußerst praktisch zu handhabende Filterröhrchen mit Asbestschicht, auf dem sich die Niederschläge mit einer automatischen Absaugvorrichtung bequem und quantitativ sammeln lassen. Das Filterröhrchen wird heute zum Sammeln und Wägen zahlreicher anderer Niederschläge verwendet. Auch das Filter- oder Saugstäbchen von EMICH hat für diese Zwecke Anwendung gefunden.

Bei der Schwefelbestimmung werden die Verbrennungsprodukte von der mit Wasserstoffsuperoxydlösung benetzten Perlenschicht absorbiert, die Schwefelsäure als Bariumsulfat gefällt und im Mikro-Gooch-Neubauer-Tiegel gesammelt. Diese Bestimmungen werden mit Einwaagen von 3 bis 5 mg ausgeführt und beanspruchen für die Verbrennung je nach dem Verhalten der Substanz bis zu 50 Minuten. Bezüglich der Verbesserungen bei der Halogen- und Schwefelbestimmung ist zu bemerken, daß PREGL die Glasperlenschicht vorteilhaft durch eine Glasspirale aus Jenaer Glas ersetzte und daß für Jodbestimmungen sich eine längere Spirale zur quantitativen Absorption des Jods als notwendig erwies. Ein weiterer Fortschritt wurde durch die Einführung der Filterröhrchen mit Glasfrittenplatte der Firma SCHOTT u. Gen. erzielt. Die Bestimmung hat sich in den meisten Fällen bewährt und auch von anderer Seite keine besonderen Abänderungen erfahren. Nur bei einem Halogengehalt von über 50% wird vielfach der Cariusaufschluß der Verbrennung im Sauerstoffstrom vorgezogen.

Es hat nicht an Bemühungen gefehlt, die Halogene auch maßanalytisch zu bestimmen. So hat schon IVAR BANG den Chloridgehalt des Blutes mit $^1/_{100}$ n-Silbernitratlösung nach MOHR bestimmt. Ebenso genau ist die Titration nach VOLHARD mit $^1/_{100}$ n-Silbernitratlösung und Rhodanammonium, eine Methode,

die über EMICH's Anregung FR. PILCH ausgearbeitet hat. Besonders eingehend hat man sich in verschiedenen Laboratorien mit der Bestimmung von Jod und Jodwasserstoff auf maßanalytischem Wege beschäftigt. Hierfür ist es, um zu exakten Ergebnissen zu gelangen, vorteilhaft, das Jodid zu Jodat zu oxydieren und nach dem Makroverfahren von WINKLER in bekannter Weise mit Kaliumjodid umzusetzen. So bestimmte zuerst FELLENBERG kleinste Jodmengen. In neuester Zeit hat für die Zwecke der Elementaranalyse TH. LEIPERT nach diesem Prinzip ein Verfahren angegeben, das sehr bequem und rasch in 3 bis 5 mg einer organischen Substanz den Jodgehalt zu bestimmen gestattet.

Von verschiedenen im Laufe der letzten acht Jahre angegebenen Methoden zur Bestimmung der Halogene nebeneinander (STREBINGER, NOMURA, DIETERLE) möchte ich auf die einfache indirekte Trennung von Chlor und Brom hinweisen, die von L. MOSER (1929) angegeben wurde. Das Verfahren beruht auf der thermischen Dissoziation der Ammoniumhalogenide, die bei der Brom-, und besonders bei der Jodverbindung viel größer ist als bei der Chlorverbindung. Der in der üblichen Weise gewonnene Niederschlag von Chlorsilber und Bromsilber wird in einem Mikro-Gooch-Neubauer-Tiegel gesammelt, bei 150 Grad getrocknet und gewogen, worauf etwa die 6fache Menge trockenes Ammoniumbromid oder Ammoniumjodid zugesetzt wird. Dann wird im Muffelofen auf 250 bis 300 Grad so lange erhitzt, bis alles Ammoniumsalz verflüchtigt und alles AgCl und AgBr in AgJ übergeführt ist. Damit sind zwei Angaben gegeben, um den Chlor- und Bromgehalt indirekt zu errechnen.

Da die gravimetrische Schwefelbestimmung nach unseren Erfahrungen dem Anfänger Schwierigkeiten bereitet, indem er entweder schon bei der Fällung oder insbesondere bei der quantitativen Überführung des Niederschlages in den kleinen Goochtiegel Fehler macht, bedeutet es einen Fortschritt, daß A. FRIEDRICH (1929) ein Verfahren fand, bei dem die Schwefelbestimmung auch von solchen Substanzen, die Stickstoff und Halogen enthalten, maßanalytisch durchgeführt werden kann. Dabei wird die Substanz nach PREGL's Vorschriften im Spiralenrohr verbrannt, die Verbrennungsprodukte in neutralisierter Wasserstoffsuperoxyd-

lösung absorbiert und dann in eine Quarzschale ausgespült. Nach dem Einengen auf ein kleines Volumen wird die Lösung mit $^1/_{50}$ n-Lauge genau neutralisiert. Fügt man dann die der verbrauchten Lauge entsprechende Menge $^1/_{50}$ n-Schwefelsäure zu, dann liegt die aus der Verbrennung des Schwefels entstandene Schwefelsäure als Bisulfat vor und die flüchtigen Säuren können beim Eindampfen zur Trockene verjagt werden. Eine neuerliche Titration mit $^1/_{50}$ n-Lauge ergibt die dem Schwefel entsprechende Schwefelsäure.

Von den zahlreichen Mikromethoden zur Bestimmung des Phosphors in organischen Substanzen hat sich das in PREGL's Laboratorium von mir ausgearbeitete Verfahren, das mit einfachsten Mitteln durchführbar ist und auch noch mit sehr geringer Phosphormenge genaue Resultate liefert, neben den anderen Methoden behauptet. Die bei der Oxydation entstandene Phosphorsäure wird als Ammoniumphosphormolybdat gefällt und der im Niederschlag enthaltene Phosphor entweder durch Wägung des Niederschlages oder auf maßanalytischem Wege bestimmt.

Für die Bestimmung kleinster Arsenmengen wurden neben der gravimetrischen verschiedene titrimetrische Methoden beschrieben, von denen für die Zwecke der Elementaranalyse das Verfahren von WINTERSTEINER besonders empfehlenswert ist, weil dabei das Arsen gleich in derjenigen Form bestimmt wird, in der es nach der Zerstörung der organischen Substanz vorliegt. Die Arsensäure setzt bei genügend hoher Salzsäurekonzentration aus zugesetztem Kaliumjodid die äquivalente Menge Jod in Freiheit, das mit $^1/_{100}$ n-Thiosulfat titriert wird. Auch für die Bestimmung des Quecksilbers (VERDINO, MEIXNER u. KRÖCKER, HERNLER) und anderer Metalle in organischen Substanzen sind in den letzten Jahren Mikromethoden angegeben worden.

Wenn man nun Umschau hält, ob die vorher geschilderten mikroanalytischen Methoden sich in der Praxis bewährt und durchgesetzt haben, so muß festgestellt werden, daß die Verfahren zur Bestimmung des Stickstoffs, der Halogene, des Schwefels, des Phosphors, Arsens sowie auch die Rückstandsbestimmung nach PREGL allenthalben Verbreitung gefunden haben. Die Methoden sind bei einiger Geschicklichkeit leicht zu erlernen und liefern

nach kurzer Übung überall zufriedenstellende Resultate mit mindestens der gleichen Genauigkeit, wie die üblichen Makromethoden.

Anders steht es jedoch mit der Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs. Ihre Erlernung birgt eine ganze Reihe von Schwierigkeiten in sich, die schon viele Anfänger abgeschreckt, aber auch manchmal erfahrene Analytiker mutlos gemacht haben, besonders wenn sogenannte „Pestperioden", wie sich FLASCHENTRÄGER ausdrückt, ausgebrochen sind, die auch bei Beachtung und Vermeidung aller von PREGL erkannten Fehlerquellen nicht zu beseitigen waren. So kommt es, daß gerade diese für den organischen Chemiker wichtigste analytische Methode noch nicht die Verbreitung gefunden hat, die sie wegen ihrer Vorteile gegenüber der Makromethode verdienen würde. PREGL selbst hat sich zwar bemüht, in jahrelangen Beobachtungen alle möglichen Fehlerquellen aufzuklären und vermeiden zu lehren, und hat daher mit der Veröffentlichung seiner Ergebnisse lange zurückgehalten. Er legte in seinem Lehrbuch die genauen Bedingungen für eine erfolgreiche Durchführung der Kohlenstoff-Wasserstoff-Bestimmung fest. Trotzdem sind in anderen Laboratorien häufig Mißerfolge zu verzeichnen gewesen. Es ist daher nicht verwunderlich, daß seit PREGL's erster großen Veröffentlichung im Jahre 1917 zahlreiche Arbeiten über die Mikrobestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs erschienen sind, in denen Verbesserungsvorschläge gemacht werden und Abänderungswünsche zum Ausdruck kommen. Von diesen Abänderungsbestrebungen sind jene nicht gerechtfertigt, wie auch BOETIUS mit Recht in seiner vor kurzem erschienenen Monographie über die Fehlerquellen bei dieser Bestimmungsmethode hervorhebt, die den vorhandenen Schwierigkeiten dadurch aus dem Wege zu gehen meinen, daß sie die Substanzeinwaagen vergrößern, dabei aber die wichtigsten Vorteile der Mikroanalyse preisgeben. Andere Verbesserungsvorschläge sind dagegen durchaus gerechtfertigt. Es hat sich gezeigt, daß PREGL's Originalmethode im kontinuierlichen Betrieb, wie er durch viele Jahre am Grazer Institut herrschte, und auch in anderen Laboratorien, in denen Tag für Tag Mikroanalysen ausgeführt werden, wie z. B. bei HANS FISCHER in München und in einzelnen Industrielaboratorien sich durchaus bewährte, daß aber dort, wo nur gelegentlich Bestimmungen ausgeführt werden, beim Wiederingang-

setzen der Apparatur häufig große Schwierigkeiten auftraten, weshalb man in solchen Laboratorien von der Anwendung der Mikro-C-H-Bestimmung nach PREGL wieder Abstand nahm. Es ist daher sehr zu begrüßen, daß in den letzten Jahren eine Reihe von Forschern der Aufforderung FLASCHENTRÄGER's nachgekommen ist, „es mögen alle, die sich mit den Mikromethoden beschäftigen, ihre Erfahrung bekanntgeben, damit die Mikroanalyse nicht immer wieder neu erfunden werden müsse". Besonders M. BOETIUS hat dazu wertvolle Beiträge in seiner Monographie über die Fehlerquellen bei der Kohlenstoff-Wasserstoff-Bestimmung nach PREGL geliefert. Ferner sind in diesem Zusammenhang zu nennen: MÜLLER u. WILLENBERG, SCHÖLLER, WREDE, FLASCHENTRÄGER, KÄMMERER u. HALLETT, BÖCK u. BEAUCOURT, MEIXNER u. KRÖCKER, LUCAS u. GRASSNER, DREW u. PORTER, und insbesondere J. LINDNER, der in den letzten drei Jahren ausführliche und genaue Untersuchungen über die Fehlerquellen bei der Elementaranalyse angestellt hat. Nach BOETIUS lassen sich, indem ich teilweise seiner Darstellung folge, die Fehlerquellen ihrem Ursprung nach in drei Gruppen gliedern: 1. Fehler durch unvorschriftsmäßige Apparatur; 2. durch ungenügend reine Reagenzien und Unzulänglichkeit der Hilfsmittel und 3. Fehler durch unrichtige Handhabung der Apparate. Die letzteren sind wohl als subjektive Fehler zu bezeichnen. Für die erste Gruppe von Fehlern, mit denen besonders der Anfänger zu kämpfen hat, sind in erster Linie die Hersteller der Apparatur verantwortlich zu machen, die die Angaben PREGL's vielfach nicht genau genug beachten.

Die zweite Gruppe umfaßt den größten Teil aller Fehlerquellen, die oft sehr schwer richtig zu erkennen sind und die die Geduld des Mikroanalytikers auf eine harte Probe stellen können. Hierher gehören all die Fehler durch verunreinigte Gase, die unerlaubten Zuwächse der Absorptionsapparate durch Abgaben aus den Füllmaterialien des Verbrennungsrohres, für die in erster Linie das leider durch kein anderes Mittel ersetzbare Bleisuperoxyd verantwortlich zu machen ist, ferner Fehler, die unter gewissen Umständen bei der Anwendung von Gummiverbindungen zwischen den Absorptionsapparaten und dem Verbrennungsrohr entstehen. Auch in den zur Trocknung und Reinigung der Gase sowie zur Absorption der Verbrennungsprodukte angewandten

Chemikalien sind Fehlerquellen zu suchen. Ohne auf weitere Einzelheiten eingehen zu können, möchte ich besonders betonen, daß es LINDNER's und BOETIUS's Verdienst ist, für alle Vorgänge und Einflüsse bei der Verbrennung zahlenmäßige Angaben über deren Größenordnung gegeben zu haben, auf Grund deren man jederzeit die Möglichkeit hat, den Einfluß auf das Gesamtergebnis abzuwägen und dadurch festzustellen, ob dieser oder jener Einfluß berücksichtigt werden muß oder vernachlässigt werden kann. Wir kennen heute auf Grund dieser Untersuchungen unter Berücksichtigung vieler schon von PREGL beobachteter Erscheinungen den Einfluß der Gummischläuche, der Trocknungsvorrichtung, der Verbrennungsrohrfüllung, vor allem des Bleisuperoxyds, sowie insbesondere der Luftfeuchtigkeit auf die Gewichtszuwächse der Absorptionsapparate und kennen damit auch größtenteils die Mittel, diese ungünstigen Einflüsse zu vermeiden.

Die Frage der Form der Absorptionsapparate war ebenfalls der Anlaß zu vielen Verbesserungsvorschlägen. Die Röhrenform, wie sie PREGL gewählt hat, ist so einfach und so bequem in der Handhabung und Reinigung, daß sie wohl kaum durch eine andere, bequemere ersetzt werden kann. Wenn damit gelegentlich keine genügende Gewichtskonstanz erzielt werden kann, so werden die Apparate entweder nicht richtig behandelt oder die kapillaren Durchgänge entsprechen nicht den Angaben PREGL's. Nur in seltenen Fällen ist in unseren Gegenden der Feuchtigkeitsgehalt der Luft so ungünstig, daß praktisch in Betracht kommende Gewichtszuwächse während der Wartezeit eintreten. Die bisher in Gebrauch gekommenen verschließbaren Apparate, wie z. B. die zuerst von BLUMER angegebenen und später von FLASCHENTRÄGER verbesserten, haben zwar in einzelnen Laboratorien Eingang gefunden, sich aber doch nicht allgemein durchsetzen können, weil auch sie eine Reihe von Nachteilen aufweisen. Auch der von KÄMMERER und HALLETT (1927) angegebene Apparat, der in der Form dem Apparate von PREGL entspricht und der durch Quecksilbertröpfchen verschlossen werden kann, scheint nicht voll zu befriedigen. Dagegen berichtet BOETIUS über eine einfache Art, die PREGL'schen Apparate gegen den Einfluß der Luftfeuchtigkeit zu schützen. Er führt in die Kapillaren während der Wartezeit

an der Waage gut passende feine Drahtstückchen aus Kupfer oder Nickelin ein und verhindert dadurch die Diffusion von Feuchtigkeit so weit, daß die Apparate auch bei längerem Liegen völlige Gewichtskonstanz aufweisen. Möglicherweise bedeuten die Röhrenapparate, die in neuester Zeit A. FRIEDRICH benützt und worüber er in der Fachgruppensitzung für analytische Chemie berichtet, einen Fortschritt.

Bezüglich der Füllung der Absorptionsapparate ist in erster Linie auf den Ersatz des Natronkalkes durch Natronasbest hinzuweisen, der unter dem Namen Askarite seit 1927 von den Amerikanern verwendet und in Handel gebracht wird. Während nämlich eine Natronkalkfüllung nur für 5 bis 6 Analysen reicht, lassen sich unter Anwendung derselben Menge Askarite 30 und mehr Analysen ausführen. Außerdem erkennt man aus der Farbenänderung von Grau in Weiß bei der Analyse, wie weit die Schicht schon verbraucht ist. Zur Absorption des Wassers wird wohl meistens Calciumchlorid verwendet. Auch bezüglich dieses Absorptionsmittels wurden von mehreren Seiten, besonders von BOETIUS, wertvolle Beobachtungen gemacht und Unzulänglichkeiten festgestellt, die einzelne Mikroanalytiker (BOETIUS, KÄMMERER und HALLETT, DREW und PORTER) veranlaßten, es durch Phosphorpentoxyd, das auf Bimsstein aufgetragen wird, zu ersetzen.

Durch solche Beobachtungen und Studien und insbesondere durch das zahlenmäßige Erfassen der verschiedenen Einflüsse auf die Kohlenstoff-Wasserstoff-Bestimmung werden wir es hoffentlich in absehbarer Zeit erreichen, daß auch diese Mikrobestimmung überall Eingang findet. Allerdings hat es den Anschein, als ob die organischen Chemiker infolge der fortschreitenden Spezialisierung und aus Zeitökonomie ihre analytischen Arbeiten und insbesondere die Ausführung von Elementaranalysen immer mehr und mehr eigenen und dafür eingerichteten Laboratorien und in Mikroanalyse geschulten Kräften zuweisen.

Ungünstige Erfahrungen mit der gravimetrischen Mikrobestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs sowie Beobachtungen über die Gewichtsschwankungen der Absorptionsapparate haben in den letzten Jahren auch zur Ausarbeitung von Methoden ge-

führt, bei denen die Menge der entstandenen Verbrennungsprodukte nicht durch Wägung, sondern durch andere Meßmethoden bestimmt wird. Ch. Graenacher beschreibt eine Methode, bei der das Kohlendioxyd gasvolumetrisch bestimmt wird. Die Bestimmung lehnt sich im übrigen an die einfache gravimetrische Mikro-Kohlenstoff-Bestimmung nach Dubsky insoferne an, als die Größe des Verbrennungsofens und des Rohres dieselben sind und der Wasserstoff mittels Calciumchloridröhrchen gravimetrisch bestimmt wird. Das Prinzip der gasvolumetrischen Kohlenstoffbestimmung besteht darin, daß zunächst das gesamte Volumen der Verbrennungsgase mit dem überschüssigen Sauerstoff gemessen und dann das Kohlendioxyd mittels Lauge absorbiert wird. Zur Erreichung genauer Resultate müssen zwei einander entgegenstehende Momente berücksichtigt werden, indem einerseits möglichst wenig überschüssiger Sauerstoff mit dem Kohlendioxyd aufgefangen werden darf, da mit steigendem Volumen der gesamten Gase die Genauigkeit der Methode leidet; anderseits muß so viel Sauerstoff zum Ausspülen des Verbrennungsrohres verwendet werden, daß sicher alles Kohlendioxyd ausgetrieben wird. Das wird durch eine besondere Füllung des Verbrennungsrohres und geeignete Form des Volumeters erreicht. Die Bestimmung wird mit 6 bis 8 mg Einwaage ausgeführt und dauert etwa 1 Stunde. In ähnlicher Weise haben schon vorher Berl und Burkhardt eine volumetrische halbmikrochemische Schnellmethode zur Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff ausgearbeitet, allerdings mit Einwaagen, die etwa 10 bis 15 mg Kohlenstoff entsprechen.

Eine sehr genaue Kohlenstoff-Wasserstoff-Bestimmung, bei der die Verbrennungsprodukte maßanalytisch bestimmt werden, stammt von J. Lindner. Er arbeitet zwar im allgemeinen mit Einwaagen von 15 bis 20 mg, zeigt aber, daß sich auch noch mit Einwaagen unter 10 mg befriedigende Ergebnisse erreichen lassen. Die maßanalytische Bestimmung des Kohlendioxyds zur Feststellung des Kohlenstoffgehaltes ist an sich nicht neu und ist schon öfters für die Analyse organischer Substanzen vorgeschlagen worden. Sie wurde aber in den letzten Jahren von Lindner so genau durchgearbeitet, daß nunmehr geringste Mengen von Kohlendioxyd auf diese Weise quantitativ noch bestimmt werden können. Lindner's Methode ist aber deshalb sehr beachtenswert, weil zur

Bestimmung des Wassers ein ganz neuer Weg beschritten wird und die erhaltenen Wasserwerte sehr genau sind. Die Verbrennungsprodukte werden durch ein Gefäß geleitet, das Naphthyloxy-chlor-phosphin enthält, und dann durch eine Vorlage mit gestellter Barytlauge. Aus dem Phosphin werden für je 1 Mol. Wasser 2 Mol. Chlorwasserstoff abgespalten. Im selben Absorptionsgefäß lassen sich dann auf maßanalytischem Wege die Salzsäure und die Kohlensäure bestimmen.

Die Bestimmung des Kohlenstoffs durch nasse Verbrennung, ein Verfahren, das für die Untersuchung von biologischen Materialien (Harn, Blut und dergl.) unentbehrlich ist und das zuerst von MESSINGER ausgearbeitet und später den verschiedensten Zwecken angepaßt wurde, haben vor einigen Jahren französische Forscher, M. NICLOUX und dann sein Mitarbeiter A. BOIVIN mit Substanzmengen von 5 bis 15 mg biologischer Flüssigkeit ausgeführt. Die Substanz wird mit einem Gemisch von Silberbichromat, Kaliumbichromat und konz. Schwefelsäure in einem besonderen Apparat, der vorher evakuiert wird, oxydiert und das entstandene Kohlendioxyd in etwa 2 n-Kalilauge absorbiert. Dann wird die Lauge in ein Zentrifugengefäß ausgespült und das Kohlendioxyd mit Bariumchlorid gefällt. Der Karbonatniederschlag wird im Zentrifugengläschen gewaschen, dann in überschüssiger $^1/_{20}$ n-Salzsäure gelöst und die überschüssige Säure mit $^1/_{20}$ n-Lauge zurücktitriert. Die Methoden sind insoferne nicht exakt, als die starke Absorptionslauge mit der Luft in Berührung kommt und die Reagenzien einen ziemlich großen Blindwert aufweisen. Die Genauigkeit beträgt etwa 1 bis 2%.

Das von mir, zusammen mit KRAINICK ausgearbeitete Mikroverfahren arbeitet in einem geschlossenen System, so daß an keiner Stelle CO_2haltige Luft zutreten kann, und schaltet auch den Blindwert der Reagenzien praktisch aus. Die Substanz wird in einer Menge, entsprechend 1 bis 3 mg Kohlenstoff in einem Gemisch von Kaliumbichromat, Silberbichromat und konz. Schwefelsäure bei 130 Grad oxydiert und das entweichende Gas im Sauerstoffstrom zwecks völliger Oxydation über glühendes Platin geleitet, vor dem und hinter dem sich Silberwolle zwecks Absorption

von Halogen befindet. Der Gasstrom wird mittels eines Gaseinleitungsrohres mit SCHOTT'scher Filterplatte beim Eintritt in $^1/_{10}$ n-Barytlauge in feinste Bläschen aufgeteilt und dadurch das Kohlendioxyd in einem einfachen zylindrischen Absorptionsgefäß quantitativ absorbiert. Das überschüssige Hydroxyd wird dann nach WINKLER im selben Gefäß mit $^1/_{20}$ n-Salzsäure zurücktitriert. Dabei ist die Einrichtung durch Einbau der Ausflußkapillare der beiden Büretten in den Gummistopfen des Absorptionsgefäßes so gestaltet, daß dieses bei der Titration nicht abgenommen zu werden braucht. Die Bestimmung dauert etwa eine Stunde, die Fehler betragen 0,1 bis 0,2%. Auch für Flüssigkeiten ist die Methode bereits ausprobiert.

PREGL verdanken wir auch mehrere Mikromethoden zur Bestimmung von Atomgruppen in organischen Verbindungen. So ist die Methoxylbestimmung nach ZEISEL, eine der bekanntesten und am meisten geübten, jetzt mit Substanzmengen von 2 bis 4 mg unter Benützung eines einfachen Apparates in 25 Minuten mit derselben Genauigkeit durchführbar wie die Makrobestimmung. Das Verfahren hat sich allenthalben bewährt.

Auch maßanalytische Mikromethoden zur Bestimmung der Methoxylgruppen sind angegeben worden. Ich habe die Makromethode von KIRPAL und BÜHN, bei welcher das Jodmethyl in Pyridin absorbiert und dann das ionogen gebundene Jod nach MOHR titriert wird, auch für kleinste Substanzmengen unter Benützung $^1/_{100}$ n-Silbernitratlösung als brauchbar gefunden. Das Verfahren hat jedoch gegenüber der gravimetrischen Methode keine Vorteile. Später haben RIPPER und WOHAK ein der Makromethode von KLEMENC nachgebildetes Verfahren angegeben, das anfänglich nur zur Bestimmung von Glyzerin und Alkohol im Wein ausgearbeitet war. In neuester Zeit beschreibt VIEBÖCK ein maßanalytisches Verfahren mit einem Apparat, der im wesentlichen dem von PREGL gleicht und mit Einwaagen von 2 bis 4 mg. Dabei wird das entstehende Jodalkyl in eine Lösung von Brom in Eisessig, die etwas Natriumazetat enthält, eingeleitet. Das Jodalkyl wird dadurch rasch zersetzt und das Jod quantitativ zu Jodsäure oxydiert, die dann in bekannter Weise mit $^1/_{30}$ n-Thiosulfatlösung bestimmt wird. Das überschüssige Brom wird vorher

durch Ameisensäure zerstört. Die Methode ist für Serienversuche sehr geeignet und sehr genau.

Zur Bestimmung der Methoxyl- neben den Äthoxylgruppen haben KÜSTER und MAAG ein mikroanalytisches Verfahren angegeben, das sich auf die Beobachtungen von WILLSTÄTTER und UTZINGER stützt, wonach Methyl- und Äthyljodid durch eine alkoholische Lösung von Trimethylamin quantitativ absorbiert werden, unter Bildung der entsprechenden Ammoniumjodide. Tetramethylammoniumjodid ist in Alkohol praktisch unlöslich, das Trimethyl-Äthyljodid darin aber leicht löslich, so daß sie durch ihre verschiedene Löslichkeit quantitativ getrennt werden können. Nach der Trennung wird das Jod mit Silbernitrat als Jodsilber gefällt und dieses im Filterröhrchen nach PREGL gewogen.

Für die Bestimmung der an Stickstoff gebundenen Alkylgruppen nach dem von HERZIG und H. MEYER angegebenen Verfahren war in erster Linie der Bau eines entsprechenden Destillationsapparates notwendig. Da der ursprüngliche Apparat von PREGL auch nach Ersatz des Siedekölbchens durch ein Quarzkölbchen, wie dies EDLBACHER vorschlug, gewisse Mängel aufwies, bedeutet der modifizierte PREGL'sche Apparat von FRIEDRICH einen wesentlichen Fortschritt. Hier kann der Gasstrom, sobald die Säure überdestilliert ist, ungehindert einen anderen Weg einschlagen und bleibt daher gleichmäßig. Auch das Zurücksaugen der Säure für eine neue Destillation bereitet keine Schwierigkeiten.

In den letzten Jahren beschäftigten sich verschiedene Forscher auch mit der Mikrobestimmung der Azetylgruppe nach WENZEL. K. FREUDENBERG beschreibt ein Verfahren, das sich dem von A. G. PERKIN empfohlenen anschließt. Es wird statt der Schwefelsäure, die starke Verkohlung und Zersetzungsreaktionen bewirkt und dadurch die Resultate unsicher macht, Toluolsulfosäure in alkoholischer Lösung zur Umesterung der Azetylverbindung und Bildung von Essigester angewendet. Das Verfahren hat sich auch bei azetylierten Zuckern und Gerbstoffen, die sowohl mit wäßrigen Säuren als auch mit Alkalien flüchtige Säure bilden, bewährt. Der entstandene Essigester wird abdestilliert und nach

der Verseifung titriert. 1925 haben FREUDENBERG und WEBER diese Methode für Substanzeinwaagen mit etwa 20 mg ausgearbeitet. Der Apparat ist allerdings ziemlich kompliziert, die Resultate jedoch sehr befriedigend, die Fehler betragen meist nicht mehr als 0,3%. Auch KÖGEL und POSTOWSKY führten um dieselbe Zeit Azetylbestimmungen mit 10 bis 20 mg Einwaage unter Verwendung eines sehr einfachen Apparatchens nach dem Verfahren von R. MAIER aus (Verseifen der Substanz mit Bariumhydroxyd, Ansäuern mit Phosphorsäure und Destillation der Essigsäure mit Wasserdampf). Die überdestillierte Essigsäure wird mit $^1/_{50}$ n-Lauge titriert.

PREGL beschäftigte sich seit vielen Jahren mit demselben Problem und mußte ebenfalls feststellen, daß das Verfahren von WENZEL oft nicht brauchbar ist. Erst unter Anwendung der von FREUDENBERG empfohlenen Toluolsulfosäure gelang es ihm gemeinsam mit SOLTYS nach vielen Bemühungen, ein exakt arbeitendes Mikroverfahren mit Einwaagen von 3 bis 5 mg zu finden. Die Methode beruht auf der titrimetrischen Bestimmung der bei der Verseifung abgespaltenen Essigsäure, welche im Vakuum abdestilliert und in vorgelegter $^1/_{100}$ n-Natronlauge aufgefangen wird. Der Überschuß an Lauge wird mit $^1/_{100}$ n-Salzsäure zurücktitriert. Kleine Mengen von Schwefeldioxyd, die bei der Verseifung stets entstehen, werden durch eine konz. Lösung von primärem Kaliumphosphat, die in einem U-Röhrchen auf Glasperlen verteilt ist, zurückgehalten. Die Abweichungen betragen bis zu 0,5%.

Das von TSCHUGAEFF und ZEREWITTINOFF angegebene Verfahren gestattet ganz allgemein den quantitativen Nachweis der aktiven Wasserstoffatome in organischen Verbindungen durch Umsetzen mit Methylmagnesiumjodid, wobei die jedem aktiven Wasserstoff entsprechende Menge Methan in Freiheit gesetzt und gasvolumetrisch bestimmt wird. FLASCHENTRÄGER hat den Apparat derart abgeändert, daß die Bestimmung mit Einwaagen von 3 bis 10 mg durchführbar ist. Er gibt genaue Anweisungen über die Herstellung des Grignardreagens und über die Behandlung der Lösungsmittel, besonders des Pyridins. Bietet schon die Makrobestimmung öfter Schwierigkeiten, so sind diese bei der Mikrobestimmung noch größer. Daher hat diese Methode noch nicht allgemein Eingang gefunden.

Schließlich ist bei Besprechung dieser Gruppe von Mikromethoden noch auf die Bestimmung des aliphatischen Aminostickstoffs nach Van Slyke hinzuweisen. Van Slyke selbst hat schon durch Verkleinerung des Makroapparates und Abänderung der Form der Gasbürette die Substanzmenge bei einer Bestimmung auf ein Zehntel gegenüber der Makrobestimmung verringert und führt die Bestimmung mit 5 bis 10 mg Aminosäure oder mit 1 ccm Lösung aus.

Von den zahlreichen Methoden zur Bestimmung des Molekulargewichtes mit geringen Substanzmengen ist wohl die von Barger (1904) angegebene die älteste. Sie beruht auf dem Vergleiche der Dampfdrucke zweier Lösungen vom gleichen Lösungsmittel, von denen abwechselnd bikonkave Tröpfchen in eine Kapillare gebracht werden. Ein Unterschied in den Dampfdrucken verursacht eine wechselseitige Änderung in der Größe der Tropfen. Die osmotisch stärkeren wachsen auf Kosten der schwächeren, was man unter dem Mikroskop durch Messen der Tröpfchen mit Hilfe eines Okularmikrometers verfolgt. Durch mehrere Versuche lassen sich also zwei Lösungen von bekannter molekularer Konzentration finden, zwischen denen die molekulare Konzentration der in Frage kommenden Lösung liegt. Ist der Gehalt der letzteren bekannt, dann kann man das unbekannte Molekulargewicht berechnen. Die Genauigkeit läßt sich sehr weit treiben, nur muß man im Besitze genau gestellter Vergleichslösungen sein. Die Methode hat vor allen anderen den Vorteil, daß sie keine reinen Lösungsmittel erfordert, daß man auch z. B. Pyridin, ja sogar Lösungsmittelgemische verwenden kann und daß sie mit sehr kleinen Substanzmengen (5 bis 10 mg) und einfachster Apparatur ausgeführt werden kann. Bei leicht flüchtigen Stoffen läßt sich noch in 0.01 molarer Lösungen über einfaches oder doppeltes Molekulargewicht entscheiden. Der osmotische Ausgleich wird nicht abgewartet. Trotzdem dauert es, bis man über die osmotische Stärke der Tröpfchen entscheiden kann, oft viele Stunden bis mehrere Tage, je nach der Flüchtigkeit des Lösungsmittels. Bei schwer flüchtigen Lösungsmitteln kann man die isotherme Destillation durch Erwärmen unterstützen. Die Methode erfordert aber immerhin längere Übung, da dem Anfänger die Entscheidung über Zu- oder Abnahme der Tröpfchen bei der sehr kleinen Änderung der

etwa 0,5 mm langen Tröpfchen — besser werden wohl 2 bis 3 mm lange Tröpfchen gewählt — oft schwer fällt.

Rast hat das Verfahren vorteilhaft modifiziert, indem er statt vieler kleiner Tröpfchen einen einzigen Tropfen von einigen Zentimetern Länge verwendet. Dadurch wird die Veränderung vervielfacht, das Füllen der Kapillare weitgehend vereinfacht und die Zahl der Ablesungen verringert. Auch die Vermischung der Lösungen beim Einfüllen wird vermindert und die Anwendung selbst sehr flüchtiger Lösungsmittel möglich gemacht. Da die wirkliche Länge der Tropfen belanglos ist und nur ihre Änderungen festzustellen sind, genügt es, wenn ein Ende festgelegt wird, das andere gegen eine Strichmarke zu messen und die Veränderungen der Luftblasen zwischen den Flüssigkeitssäuren festzustellen. Nachprüfungen haben ergeben, daß die Fehler im Falle von Nicht-Elektrolyten 0,01 g Mol nicht überschreiten. Durch einige Abänderungen hat Rychterowna die Genauigkeit der Methode auf 0.005 g Mol erhöht. Die Entscheidung über einfaches oder doppeltes Molgewicht läßt sich stets durch die erste Serie von Messungen herbeiführen, in einer zweiten Serie wird das Molgewicht genauer und noch mehr eingegabelt.

Beide Methoden haben den Nachteil, daß es beim Füllen der Kapillare und während der langen Beobachtungszeit zu einem teilweisen Vermischen der Lösungen kommt. Diesen Übelstand vermeiden Berl und Hefter, daß sie an Stelle einer geraden eine gebogene, während der Beobachtungszeit aufrecht gestellte Kapillare verwenden und die beiden Lösungen durch verschiedene Öffnungen einführen, die sie dann abschmelzen und schließlich erst, nachdem eine Luftblase von 10 mm Länge gegen den Bogen hin vorhanden ist, auch die Öffnung am kapillaren Bogen zuschmelzen. Die Kapillare kommt in senkrechter Lage in den Thermostaten von 20 Grad, die erste Ablesung erfolgt nach 1 bis 2 Stunden. Mit dieser Methode kann man durch entsprechendes Eingabeln des vermuteten Molekulargewichtes der Substanz Molekulargewichte bis zu Werten von etwa 3000 bestimmen. Bei einer Verdünnung von 0,003 n unterscheidet die Methode noch eine Konzentrationsdifferenz von 10%, bei Anwendung 1%iger Lösungen ist die Genauigkeit bei Molekulargewichten zwischen 100 und 300 ungefähr 2 bis 3%. Ein Nachteil ist die verhältnismäßig lange Destillations-

zeit. Für 1%ige Lösungen mit Azeton als Lösungsmittel und Azobenzol als Testsubstanz benötigt man 4 bis 6 Tage für eine Bestimmung. Äther gibt in 3%igen Lösungen schon nach zwei Tagen sichere Ergebnisse.

Während bei der Methode von BARGER und seinen zwei Modifikationen die Einstellung des Gleichgewichtes zwischen den beiden Lösungen nicht abgewartet, sondern nur die Richtung beobachtet wird, in der die Destillation stattfindet, beschreibt SCHWARZ (1929) ein Verfahren, bei welchem die praktische Einstellung des Gleichgewichtes abgewartet wird, so daß man durch bloße Konzentrationsbestimmung das Verhältnis der Molekulargewichte erhalten kann. Wesentliche Bedingung zur praktischen Einstellung des Gleichgewichtes ist völlige Gas- und Luftfreiheit der Dampfphase und Temperaturgleichheit der beiden Lösungen. Dem Nachteil, daß hier reine Lösungsmittel verwendet werden müssen, steht der Vorteil der Einfachheit gegenüber. Es fallen das Mikroskop sowie besonders die Herstellung der Vergleichslösungen weg und statt der vielen vergleichenden Messungen genügt ein einziger Versuch. Die Methode ist prinzipiell für beliebig kleine Substanzmengen anwendbar.

Von den kryoskopischen Mikroverfahren ist an erster Stelle die Kampfermethode von RAST zu nennen, die wegen ihrer Einfachheit bereits die allgemeinste Verbreitung gefunden hat. Wegen der hohen Molekulardepression des Kampfers findet man schon mit einem guten Stabthermometer das Auslangen und die Bestimmung kann in jedem Schmelzpunktapparat vorgenommen werden. Dabei genügen einige Zehntelmilligramm Substanz. Auch für nicht leicht flüchtige Flüssigkeiten ist die Methode anwendbar.

Da die Methode von RAST wegen des hohen Schmelzpunktes des Kampfers für eine Reihe von Substanzen nicht anwendbar ist, und auch andere bisher bekannte Mikromethoden von äußeren Einflüssen, wie Flammengröße, Gasdruck, stark abhängig sind und leicht zu niedrige Werte liefern, zumal sich ein Teil des Lösungsmittels im Gasraum, an den Gefäßwänden und am Thermometer befindet und dadurch die Lösung konzentrierter und die Siedepunkterhöhung größer wird, schlägt H. JÖRG vor, zur Vermeidung eines großen Teiles der Wärmeverluste und Fehlerquellen Ther-

moelemente zu benutzen. Es wird dabei die Schmelzpunktdepression aus der Spannung ermittelt, die ein Thermoelement aus Kupfer-Konstantan-Kupfer oder Silber-Konstantan-Silber liefert, dessen eine Lötstelle sich im erstarrenden reinen Lösungsmittel, dessen zweite Lötstelle sich in der erstarrenden Lösung befindet. Als Meßinstrument wird ein Schleifengalvanometer von ZEISS vorgeschlagen.

KUBATA und YAMANE bestimmen das Molgewicht mit 4 bis 8 mg Substanz in 1 ccm Lösungsmittel aus der Änderung des Widerstandes eines Silberdrahtes mit der Temperatur. KENJI IWAMOTO (1928) benützt einen einfachen, verkleinerten Apparat nach BECKMANN und führt die Bestimmung mit 8 bis 16 mg und etwa 1,5 ccm Lösungsmittel aus.

Von den ebullioskopischen Methoden zur Mikrobestimmung des Molekulargewichtes ist zunächst die von PREGL ausgearbeitete zu nennen. Die Temperaturbestimmung erfolgt mit einem BECKMANN-Thermometer auf 0,002 Grad genau; die Einwaage beträgt 7 bis 15 mg, die Menge des Lösungsmittels 1,5 ccm. Die Resultate sind bei Anwendung niedrig siedender Lösungsmittel sehr befriedigend.

Um Temperaturschwankungen durch Überhitzen des Lösungsmittels zu vermeiden, wenden A. RIECHE (1926) sowie auch SUCHARDA und BOBRANSKI (1927) bei der ebullioskopischen Bestimmung mit kleinen Substanzmengen das von SWIETOSLAWSKI und ROMER (1925) bei der entsprechenden Makromethode benutzte Prinzip an, mit Hilfe der Dampfentwicklung einen Strahl der im Apparat siedenden Flüssigkeit gegen die Kugel des Thermometers zu treiben. Der Apparat von RIECHE lehnt sich völlig an den Makroapparat der polnischen Forscher an und arbeitet mit 15 bis 25 mg Substanz und 4 ccm Lösungsmittel. Beim Apparat von SUCHARDA und BOBRANSKI werden Einwaagen von 30 bis 40 mg und 4 bis 5 ccm Lösungsmittel verwendet. Für diesen Apparat kann jedes BECKMANN-Thermometer Verwendung finden. Der Apparat hat weder Schliffe noch Korkverbindungen, was einen Vorzug bedeuten dürfte. Als Lösungsmittel werden Benzol, Azeton und Methylalkohol angegeben.

Der Titel des Vortrages würde nunmehr eine Besprechung der

Methoden zur quantitativen Bestimmung kleinster Mengen einzelner organischer Stoffe erfordern. Die Zahl solcher Methoden ist heute schon fast unabsehbar, so daß es mir nicht möglich ist, auf Einzelheiten einzugehen. Zahlreiche dieser Methoden sind für den Biochemiker und ebenso für den Kliniker unentbehrlich geworden. Ihre Einführung in die medizinische Chemie und in die Klinik knüpft sich an den allzu jung verstorbenen, verdienstvollen Forscher Ivar Bang. Er war es, der schon zu einer Zeit, wo Mikroanalyse nur in wenigen Laboratorien betrieben wurde, Mikromethoden, wie wohl allgemein bekannt, zur quantitativen Bestimmung von Blutbestandteilen ausgearbeitet hat. Seine Methoden haben in der Folgezeit in klinischen Laboratorien Eingang gefunden und haben in erster Linie dazu beigetragen, daß die Verfahren zur Bestimmung einzelner organischer Verbindungen weiter ausgebaut und vielfach verbessert wurden. Ich brauche nur auf die Methoden zur Bestimmung des Blutzuckers, des Harnstoffes, der Harnsäure, der Milchsäure, des Cholesterins, der Phosphatide hinzuweisen, um ihre Bedeutung für die Physiologie und Pathologie zu kennzeichnen. Erst seit Einführung der Mikromethoden hat man Einblick in viele Stoffwechselvorgänge sowie deren Störungen gewonnen, erst nach Einführung der Mikromethoden sind viele Probleme der Biochemie in Angriff genommen und einer Lösung zugeführt worden.

Neben viel Erfreulichem ist über einzelne dieser Methoden auch Unerfreuliches zu sagen. So manche der Methoden, die auf Kliniken ausgearbeitet und zur Anwendung gekommen sind, halten einer strengen Kritik bezüglich Genauigkeit nicht stand. Leider werden auch auf Grund von Mikromethoden, die nicht genügend genau erprobt sind und die auch in viel benützte Laboratoriumsbücher übergegangen sind, wissenschaftliche Probleme in Angriff genommen und aus dem Resultate weittragende Schlüsse gezogen. Es ist nur zu hoffen, daß mit der Weiterentwicklung der quantitativen Mikroanalyse diese sogenannten klinischen Mikromethoden allmählich exakteren den Platz werden räumen müssen.

Über die Auswirkungen der quantitativen organischen Mikroanalyse noch viele Worte zu verlieren, halte ich nicht mehr für notwendig. Die Ökonomie in jeder Beziehung ist durch das Arbeiten mit kleinen Stoffmengen gewaltig gesteigert worden.

Die Anwendung der Mikrochemie in der Technik.

Von **F. Grassner.**

J. G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft, Werk Oppau.

Der Aufforderung, Ihnen hier in Wien einiges über die Anwendung der Mikrochemie oder der Mikroanalyse in der Technik vorzutragen, bin ich um so lieber nachgekommen, als wir uns hier im klassischen Lande der Mikrochemie, als das Österreich bezeichnet werden darf, befinden. Von Graz aus nahm im Jahre 1911 das erste Lehrbuch der Mikrochemie, von F. EMICH verfaßt, seinen Ausgang, und hier in Wien hat vor nunmehr 18 Jahren F. PREGL auf der damaligen Naturforscherversammlung zum erstenmal der Fachwelt seine klassischen Methoden der organischen Mikroelementaranalyse vorgeführt. Immer weiter wurde dann die mikrochemische Methodik ausgebaut und wieder waren es insbesondere österreichische Forscher, die an diesem Werk in hervorragender Weise beteiligt waren.

Daß sich auch die Industrie bald der mikroanalytischen Methoden für ihre Zwecke bediente, war naheliegend. Von den wissenschaftlichen Instituten der Hochschulen drangen sie langsam und allmählich (etwa von 1919 ab) auch in die Technik und Praxis des Fabrikbetriebes ein. Hier waren es insbesondere die medizinisch-chemischen Laboratorien der pharmazeutischen Industrie, die bei der wissenschaftlichen Untersuchung ihrer Heilmittel usw. die mikrochemischen Methoden zuerst benützten. Bald darauf fingen auch die chemisch-technischen Untersuchungslaboratorien der Industrie an, die Mikroanalyse für ihre Zwecke nutzbar zu machen. Es sei nicht in Abrede gestellt, daß man dort die Mikroanalyse anfänglich mit oft recht skeptischer Miene betrachtete. Dabei fragte man sich, ob die Anwendung dieser Feinmethoden, deren Handhabung doch schwierig sei und, wie man meinte, besonderes Personal voraussetze, in den Fabriklaboratorien überhaupt möglich sei, wobei man auf anfangs fehlgeschlagene Versuche in dieser Richtung hinweisen konnte. Heute hat diese vorgefaßte Meinung keine Geltung mehr: Die Mikroanalyse hat sich auch in der Technik bestens bewährt, und daß ihr immer weitere

Kreise auf dem gesamten Gebiet der chemisch-technischen Untersuchungen erschlossen werden, davon legen die zahlreichen Veröffentlichungen von Mikromethoden auf den verschiedensten Industriegebieten Zeugnis ab.

Wenn wir nun fragen, welchen Nutzen uns die Anwendung mikrochemischer Methoden bei chemisch-technischen Untersuchungen bringen kann, so läßt sich darüber folgendes sagen: Vor allem erzielt man neben Ersparnissen an Raum und Energien einen großen Zeitgewinn, was besonders bei den oft anfallenden Massenanalysen, die schnell erledigt werden müssen, von Bedeutung ist. Man wird also auch dort die Mikroanalyse anwenden, wo kein Mangel an Untersuchungsmaterial zu deren Verwendung zwingt. Ein weiterer, recht beachtenswerter Vorteil ist ferner die Möglichkeit, auch beim Vorhandensein äußerst geringer Mengen an Probematerial noch Untersuchungen ausführen zu können, die früher bei Benützung von Makromethoden wegen „Substanzmangel" schlechthin unmöglich waren. Schließlich kann durch die Benützung der empfindlichen Mikromethoden die Analysengenauigkeit zweifellos gesteigert werden.

So wird man die Mikroanalyse in den Untersuchungslaboratorien der chemischen Industrie sowohl auf ihrem eigentlichen Gebiet, also bei der Analyse kleinster Substanzmengen, benutzen; weiter wird man sie aber auch zur Ermittlung der sogenannten Spuren chemischer Stoffe, die mit großen Mengen anderer Substanzen vermischt oder verbunden sind, heranziehen können. Gerade für diese „Spurensuche", um hier ein Wort von Emich zu gebrauchen, ist unseres Erachtens die Mikroanalyse ein geradezu ideales Hilfsmittel.

Unter diesen Gesichtspunkten haben wir nun vor etwa neun Jahren auf Anregung des Vorstandes des Forschungslaboratoriums Oppau der J. G. Farbenindustrie, Herrn Direktor Doktor Mittasch, die Mikroanalyse im Analytischen Laboratorium Oppau zusammen mit dessen Leiter, Herrn Dr. Lucas, zunächst probeweise eingeführt. Bald zeigte es sich, daß diese Methoden auch bei unseren chemisch-technischen Untersuchungen recht brauchbar waren, was Veranlassung gab, die mikroanalytische Methodik zusammen mit einer Reihe von Mitarbeitern für unsere besonderen Zwecke weiter auszubauen.

Um Ihnen nun einen Einblick in die vielseitige Verwendungsmöglichkeit dieser „technischen Mikroanalyse" zu geben, sei mir gestattet, Ihnen einiges Diesbezügliche aus dem Betrieb unserer Laboratorien, insonderheit unseres Oppauer Werkes, mitzuteilen. Anschließend soll dann noch kurz von anderen Industrien berichtet werden, die — soweit dies uns bekannt geworden ist — bei ihren verschiedenartigsten technischen Untersuchungen ebenfalls Mikromethoden benützen.

Um mit der

quantitativen organischen Mikroanalyse,

wie sie von PREGL erfunden wurde, zu beginnen, läßt sich sagen, daß diese sich auch in chemisch-technischen Untersuchungslaboratorien durch ihre Sicherheit und Genauigkeit in jeder Richtung bewährt hat. Die Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff, Stickstoff, Halogen, Schwefel, Phosphor, Methoxyl in organischen Substanzen erfolgt bei uns fast ausschließlich auf mikroanalytischem Wege nach den PREGL'schen Methoden. Auch aus unseren Werken in Ludwigshafen und Höchst liegen Mitteilungen vor, daß sich dort die organische Mikroelementaranalyse ebenfalls in jeder Hinsicht bewährt hat. Auf die TER MEULEN'schen Halbmikroverfahren, insbesondere auf die originelle Halogenbestimmung, möchte ich kurz hinweisen. Diese beruht darauf, daß man in einem leeren Quarzröhrchen die organische, halogenhaltige Substanz in einem ammoniakhaltigen Wasserstoffstrom erhitzt, wobei das Ammoniak katalytisch wirkt; der Halogengehalt des wegsublimierten Ammonhalogenids wird dann ermittelt. Mit recht gutem Erfolg benützen wir weiter die organische Mikroanalyse bei der Untersuchung von festen und flüssigen Brennstoffen sowie bei der Analyse von Mineralölen. Kohlenstoff-Wasserstoff-Bestimmungen in Kohlen, Teeren usw. lassen sich mit 10 bis 20 mg Einwaage ohne weiteres in der PREGL'schen Apparatur ausführen, ebenso die Ermittlung des Stickstoffs und Schwefels in diesen Produkten nach den PREGLschen Methoden. Hier könnte die Frage gestellt werden, ob z. B. die 10 oder 20 mg des zur Analyse kommenden Kohlepulvers wirklich eine Durchschnittsprobe aus dem oft

viele Tonnen betragenden Untersuchungsobjekt darstellen. Diese Frage ist zu bejahen; die nach vorschriftsmäßiger Probenahme und Bemusterung des Kohlehaufens schließlich erhaltene, durch ein sehr feines Metallsieb mit 1600 Maschen pro Quadratzentimeter gesiebte 125 g Probe ist ein so staubfeines, homogenes Pulver, daß es — wie Versuche unsererseits ergeben haben — im Endresultat keine Rolle spielt, ob man die Analyse mit 200 mg oder mit 10 bis 20 mg ausführt; zu demselben Ergebnis kommt auch BENEDETTI-PICHLER bei seinen interessanten Versuchen über die quantitative Mikroanalyse von Substanzgemischen, auf die ich hier hinweisen möchte.

In reichlichem Maßstab werden von uns ferner die PREGL'schen Methoden der Schwefel- und Halogen-Bestimmung insbesondere bei der Ermittlung des Schwefel- und Chlorgehaltes in Teerölen und Benzinen benutzt. Nach PREGL wird die Bestimmung des organisch gebundenen Schwefels und Halogens in der Weise ausgeführt, daß man einige Milligramme der Substanz im Sauerstoffstrom an Platinfolie verbrennt, die entstandene Schwefelsäure in Perhydrollösung auffängt und über Bariumsulfat mikroanalytisch ermittelt. Um nun in Teerölen, Benzinen und ähnlichen den Schwefelgehalt (bis herab zu $^1/_{1000}\%$) zu bestimmen, kann man das PREGL-Röhrchen nicht ohne weiteres benutzen, da immerhin einige 100 Milligramm der Substanz eingewogen werden müssen und die oft leicht flüchtigen Substanzen unzersetzt über die Platinfolie wegdestillieren würden. Wir verfahren deshalb in der Weise, daß wir das Öl oder Benzin in einer zweckmäßig konstruierten Apparatur im Wasserstoffstrom vergasen, das Substanzdampf-Wasserstoffgemisch im Sauerstoffstrom über Platin verbrennen und die entstandene Schwefelsäure analog wie nach PREGL's Methode in Perhydrollösung auffangen. So lassen sich z. B. 200 mg eines Teeröls in etwa 20 Minuten oder 2 ccm Benzin in etwa einer Stunde mühelos verbrennen. Die schließlich erhaltenen geringen Mengen an Bariumsulfat werden dann auf der Mikrowaage ausgewogen. In ähnlicher Weise läßt sich auch der Chlorgehalt (bis herab zu $^1/_{1000}\%$) in Ölen und Benzinen, die z. B. mit Aluminiumchlorid behandelt worden waren, ermitteln. Auf dem Gebiete der Öl analyse lassen sich ferner bei der Bestimmung von Jodzahl, Säurezahl, Verseifungs-

zahl und Acetylzahl ebenfalls mikrochemische Methoden mit gutem Erfolg benützen.

Weitester Verwendung erfreuen sich bei uns auch die Methoden der

qualitativen organischen Mikroanalyse,

insbesondere in Form der mikroskopischen Kristallbeobachtung, wie diese in dem bekannten Lehrbuch der organischen mikrochemischen Analyse von Behrens und Kley beschrieben ist. So haben wir, um Ihnen einige Beispiele zu nennen, anläßlich einer Arbeit über die aromatischen Bestandteile des Braunkohlenteers zum mikroskopischen Nachweis der höheren Kohlenwasserstoffe die charakteristische Reaktion dieser mit α-Dinitrophenanthrenchinon benützt. Oder in einem Gemisch der verschiedensten Pyridin-, Pyrimidin- und Chinolinbasen wurden die einzelnen Komponenten durch mikroskopische Kristallfällungen als Pikrate oder Platinsalze ermittelt. Anläßlich von Versuchen mit Harnstoffkondensationsprodukten waren wir öfters vor die Aufgabe gestellt, Harnstoff in minimalen Mengen nachzuweisen; die bekannte Xanthydrolreaktion nach Fosse erwies sich dazu recht brauchbar. Zum Nachweis von Spuren von Methylalkohol in Weingeist wurde im Untersuchungslaboratorium unseres Werkes Ludwigshafen eine mikroskopische Methode ausgearbeitet, die auf der Ermittlung des Formaldehyds mit dem Vorländer'schen Reagens beruht. Man oxydiert den Alkohol zu Acetaldehyd, bezw. Formaldehyd und trennt die Aldehyde über die Formaldehyd-Ammoniakverbindung, das sogenannte Hexamethylentetramin. Nun macht man den Formaldehyd wieder frei und weist ihn mit dem sogenannten Methon nach Vorländer in Form der charakteristischen Methylendimethonkristalle mikroskopisch nach. 0,1% Methanol in Aethanol können noch sicher nachgewiesen werden.

Ich möchte Ihnen nun einiges über die Verwendungsgebiete der

anorganischen Mikroanalyse

in unseren Laboratorien berichten. Grundlegend sind hier die Methoden, die wir insbesondere Behrens, Kley, Emich, Feigl, Strebinger und anderen verdanken. Um das Gebiet der

qualitativen anorganischen Mikroanalyse

hier vorwegzunehmen, läßt sich sagen, daß sich gerade in einem chemisch-technischen Untersuchungslaboratorium für die Verwendung dieser Methoden ein ausgedehntes Feld bietet. Es ereignet sich dort häufig, daß man z. B. geringe Mengen von Sedimenten, Ausschwitzungen, Kondensaten aller Art, die in irgendeiner Apparatur oder dergleichen entstanden sind, zur Analyse erhält. Oft ist das Ergebnis dieser Untersuchungen für den betreffenden Betrieb von ausschlaggebender Bedeutung, insbesondere, wenn es sich z. B. um die Feststellung von Korrosionsschäden an Apparaten, Rohrleitungen und dergleichen handelt. Hier leisten uns die Methoden der qualitativen anorganischen Mikroanalyse wertvolle Dienste, sei es in Form der mikroskopischen Kristallbeobachtung oder in Form der zahlreichen Farbreaktionen, von denen hier insbesondere die hübschen Tüpfelmethoden von FEIGL und anderen und die Schwermetallreaktionen mit dem Diphenylthiocarbazid (dem sogenannten Dithizon) erwähnt seien.

Was nun die

quantitative anorganische Mikroanalyse

anbetrifft, so bietet sich für deren Anwendung reichlich Gelegenheit bei der Untersuchung unserer Stickstoffdüngemittel und technischen Stickstoffsalze. Bekanntlich werden diese Stoffe nach ihrem Stickstoffgehalt gehandelt; es bereitet nun keine Schwierigkeiten, den Stickstoffgehalt dieser Salze ebenfalls mikroanalytisch zu bestimmen, zumal die Frage der Erzielung einer Durchschnittsprobe hier sehr einfach zu lösen ist, indem man etwa mehrere Gramme des betreffenden Salzes in einer gemessenen Wassermenge löst und mit einem aliquoten Teil dieser Lösung die Mikroanalyse ausführt. Dem steht aber entgegen, daß die Methoden der Gehaltsbestimmungen der Düngemittel und dergleichen zwischen den Lieferanten und Abnehmern genau vereinbart sind. Diese Makromethoden können deshalb vorläufig noch nicht durch Mikromethoden ersetzt werden, obwohl dieses ohne Beeinträchtigung der Genauigkeit ohne weiteres möglich wäre. Mit Hilfe der anorganischen Mikroanalyse können wir weiter auch die che-

mische Homogenität z. B. eines sogenannten Mischdüngers feststellen. Eine Reihe von Düngesalzen kommen aus Gründen der Zweckmäßigkeit granuliert in Form etwa hirsekorngroßer Körnchen in den Handel. Man kann nun durch Mikroanalyse der einzelnen Körnchen, die einige Milligramm wiegen, leicht untersuchen, ob die Körnchen in ihrer chemischen Zusammensetzung einander gleich sind. Auch die Herkunft eines Düngemittels, z. B. ob nach dem HABER-BOSCH-Verfahren oder aus Gaswasser hergestelltes Ammonsulfat vorliegt, läßt sich durch Bestimmung gewisser, in Spuren in diesen Salzen vorhandener Begleitstoffe ermitteln.

Gerade für die quantitative Spurensuche von Fremdstoffen in unseren Düngemitteln und technischen Stickstoffsalzen benützen wir in ausgedehntem Maße mikroanalytische Methoden und erzielen dadurch Zeitgewinn und Erhöhung der Genauigkeit. Diese quantitative Spurensuche ist deshalb von besonderer Wichtigkeit, weil manche Produkte erst dann handelsfähig sind, wenn sie bestimmte Verunreinigungen nicht oder doch nur in Mengen, die eine bestimmte Grenze nicht überschreiten dürfen, enthalten. So muß z. B. Salmiak für bestimmte Zwecke bleifrei sein oder er darf Blei höchstens in einer Größenordnung unter 1:1,000.000, entsprechend unter $^1/_{10000}\%$ enthalten. Um nun diese geringe Bleimenge in Salmiak (oder in anderen technischen Stickstoffsalzen) noch quantitativ zu erfassen, wird das Blei als Sulfid an Kupfersulfid ausgefällt und dann aus der schließlich erhaltenen salpetersauren Bleikupferlösung elektrolytisch in einer Mikroapparatur als Bleisuperoxyd abgeschieden. Dieses wird dann mikrojodometrisch oder kolorimetrisch durch die intensive Blaufärbung, die es mit der sogenannten Diphenylbase unter Bildung eines blauen Diphenylmethanfarbstoffes gibt, bestimmt. Geht man z. B. von 100 g Salmiak aus, so lassen sich in diesem nach dem erwähnten Mikroverfahren noch 25 Gamma Blei (entsprechend 0,25 Teile Blei auf 1 Million Teile Salmiak) exakt ermitteln. Auch die PREGL'sche Mikrokupferbestimmung auf elektroanalytischem Wege, wie er diese für die Bestimmung der Kupferspuren in Gemüsekonserven ausgearbeitet hat, läßt sich mit gutem Erfolg für eine eventuelle Bestimmung von Kupferspuren in Düngemitteln benutzen. Sind die auf der Kathode abge-

schiedenen Kupfermengen auf der Mikrowaage nicht mehr wägbar, so löst man das abgeschiedene Kupfer von der Elektrode ab und ermittelt es kolorimetrisch z. B. über die grüne Lösung des Kupfer-Pyridin-Rhodan-Komplexes in Chloroform.

Recht aktuell war bei uns auch die Ermittlung von Jodspuren in Düngemitteln, und besonders in Erde und Pflanzenteilen. Grundlegend sind hier die v. FELLENBERGschen Methoden, die, ohne hier auf Einzelheiten einzugehen, bekanntlich darauf beruhen, daß der jodhaltige Stoff mit Pottasche verascht und aus dem Veraschungsrückstand das Jodkali mit Alkohol extrahiert wird. Das aus dem Alkoholextrakt mit Nitritschwefelsäure freigemachte Jod wird nach dem Ausschütteln mit Chloroform kolorimetrisch ermittelt. Allerdings wurde die Methode der Veraschung in der offenen Schale, wie sie v. FELLENBERG angegeben hat, von uns verlassen und, um Jodverluste zu vermeiden, durch ein Veraschungsverfahren im geschlossenen System ersetzt.

Von Wichtigkeit ist ferner für uns die Bestimmung von Metallgiften in Lebensmittelfarbstoffen; an diese Farbstoffe werden naturgemäß hohe Anforderungen, das Freisein oder einen Maximalgehalt an gesundheitsschädlichen Metallen betreffend, gestellt. Zu berücksichtigen sind hier in erster Linie Arsen, Blei, Kupfer, Zinn und Zink; außer diesen kommen in selteneren Fällen noch Antimon, Chrom und Mangan in Frage. Es ist einleuchtend, daß sich zur Bestimmung dieser Metallgifte Mikromethoden in besonderem Maße eignen. Nach dem Veraschen von etwa 5 g des Farbstoffes mittels Salpeter-Schwefelsäure macht man zuerst eine kurze, qualitative, mikrochemische Analyse der Asche und trennt dann in einer zweiten Probe die Metalle über die Sulfide. Kupfer und Blei ermittelt man, wie oben erwähnt, mikroelektroanalytisch, eventuell anschließend kolorimetrisch. Zink läßt sich mikroanalytisch gut als Pyrophosphat bestimmen, während Zinn und Antimon mikrojodometrisch ermittelt werden können. Arsen bestimmt man nach dem MARSH-BIRKENBACH'schen Verfahren. In den meisten Fällen muß für einen Schwermetallgehalt garantiert werden, der unter 20 Teilen Schwermetall auf 1 Million Teile Farbstoff, also unter $^2/_{1000}\%$ liegt.

Da hier gerade von gesundheitsschädlichen Metallgiften die Rede ist, möchte ich in diesem Zusammenhang auch auf die Ermittlung von Quecksilberspuren in Luft, Exkrementen und gewissen organischen Präparaten kurz eingehen. Seit den bekannten Veröffentlichungen von STOCK über die Gefährlichkeit des Quecksilbers hat die exakte Bestimmung von Quecksilberspuren an Bedeutung gewonnen. So kontrollieren wir die Luft unserer Laboratoriumsräume, in denen mit Quecksilber gearbeitet wird, auf ihren Gehalt an Quecksilberdampf; ebenso wird bei Verdacht auf Quecksilbervergiftung der Urin der in den betreffenden Räumen arbeitenden Personen auf Quecksilber untersucht. Dazu dienen die von STOCK angegebenen Methoden. Nach Isolierung des Quecksilbers wird dieses mikroelektro-analytisch am besten auf Kupfer niedergeschlagen, dann abdestilliert und nach Überführung in das Chlorid kolorimetrisch mittels Diphenylcarbazon ermittelt. Statt der Überführung in das Chlorid und der kolorimetrischen Bestimmung kann man das abdestillierte Quecksilber auch mikrometrisch nach BODNÁR und SZÉP bestimmen, indem man die abdestillierten Quecksilberkügelchen zu einer Kugel vereinigt, diese unter dem Mikroskop mißt und ihr Gewicht errechnet. STOCK hat diese mikrometrische Methode so verfeinert, daß noch 0,01 Gamma Quecksilber quantitativ erfaßt werden können. Auf mikrometrischem Wege werden z. B. auch Quecksilberspuren in Essigsäure, die aus Acetylen unter Verwendung von Quecksilberkatalysatoren gewonnen wurde, bestimmt.

Weitere Verwendungsmöglichkeiten für die quantitative anorganische Mikroanalyse bestehen bei der Untersuchung von Ölen und ähnlichen Stoffen. Ob z. B. ein Mineralöl mit einer Bleicherde und mit welcher Art dieser behandelt worden ist, läßt sich durch eine Mikroanalyse der Asche des Öls leicht feststellen. Fettsäuren können mit einem Nickelkatalysator, Wachse mit Chrom- oder Mangansalzen in Berührung gekommen sein; die quantitative Ermittlung dieser Metallspuren in den betreffenden Stoffen bereitet keine Schwierigkeiten; man ermittelt die Nickelspuren mit der Dimethylglyoximreaktion und bestimmt Mangan oder Chrom kolorimetrisch als Manganat, bezw. Chromat. In Amerika wird als

Motortreibstoff vielfach das sogenannte Ethylgasolin, eine Lösung von Bleitetraäthyl in Benzin, benutzt; ein Teil des Bleitetraäthyls geht beim Betrieb des Motors als Bleinebel in das Schmieröl über. Anläßlich einer Versuchsreihe waren wir vor die Aufgabe gestellt, in zahlreichen Schmierölproben den oft minimalen Gehalt an feinverteiltem Blei zu bestimmen. Dies geschah in einfacher Weise, indem man das Öl mit Salpeter-Schwefelsäure veraschte und in der Asche das Blei mikroelektroanalytisch ermittelte.

Auch die Aschenanalyse bei der Untersuchung unserer Kohlen führen wir mikroanalytisch durch. Statt etwa 5 g Asche, die für eine Mikroanalyse benötigt werden, genügen einige hundert Milligramm dieser, um das in ihr enthaltene Eisen, Aluminium, Kalzium, Magnesium und die Kiesel-, Schwefel- und Phosphorsäure mikroanalytisch zu bestimmen.

Im Zusammenhang mit der quantitativen anorganischen Mikroanalyse möchte ich Ihnen noch von einigen hübschen Untersuchungen berichten, die zwar mit dem Betrieb unseres Werkes nichts zu tun hatten, aber doch ein interessanter Beitrag zur Methodik der anorganischen Mikroanalyse sind. Es ist Ihnen vielleicht bekannt, daß in den letzten Jahren aus dem im Albanergebirge gelegenen Nemisee die Reste der berühmten Prunkschiffe aus der Zeit des römischen Kaisers Caligula gehoben wurden. Wir hatten nun Gelegenheit, aus diesen Schiffen neben Bronzen und anderem auch sieben Mosaiksteinchen, die etwa erbsengroße Stückchen darstellten, zur Analyse zu bekommen. Die nun fast 1900 Jahre alten Steinchen, die rot, hellblau, blau, weiß, grün-weiß-rot, grün und gelb gefärbt waren, wurden einer eingehenden mikrochemischen Untersuchung unterworfen; dabei wurde gefunden, daß es sich um sehr weiche, stark alkalihaltige, schlecht durchgeschmolzene Natrongläser handelt, die jedenfalls sämtlich aus einer und derselben Glasfabrik stammten. Interessant war auch der Befund, daß die blauen Steinchen keine Kobalt-, die grünen keine Chromverbindungen enthielten. Kobalt und Chrom als glasfärbende Zusätze kannte die Antike nicht; diese Elemente treten nach Neumann erst etwa im 15. Jahrhundert in venezianischen Gläsern auf.

Ich möchte Ihnen nun im Anschluß an die anorganische Mikroanalyse einiges über die Methoden der

Mikrogasanalyse,

wie wir diese in unseren Laboratorien benützen, mitteilen. Es handelt sich dabei weniger um die eigentliche Mikrogasanalyse, also die Bestimmung der Bestandteile kleinster Gasmengen, als vielmehr um die Erfassung kleinster Mengen von Gasen und Dämpfen, die in großen Mengen irgendeines anderen Gases oder chemischen Stoffes enthalten sind. So ist es z. B. für unsere Ammoniakfabrik von Wichtigkeit, das für die Ammoniaksynthese zur Verwendung gelangende Stickstoff-Wasserstoffgemisch laufend auf Spuren organischer Schwefelverbindungen, die bekanntlich ein starkes Kontaktgift sind, zu untersuchen. Größenordnungsmäßig liegt der Gehalt der Gase an diesen Schwefelverbindungen unter 1 mg S/cbm. Zu diesen Untersuchungen benützen wir eine Methode, die auf der PREGL'schen Schwefelbestimmung aufgebaut ist. Das Gas wird in einer passenden, dem PREGL'schen Perlenröhrchen ähnlichen Apparatur mit Sauerstoff gemischt, an Platin verbrannt und die entstandene Schwefelsäure über Bariumsulfat mikroanalytisch ermittelt. Man verbrennt bei einem Gehalt des Gases an organischem Schwefel unter 1mg/cbm etwa 200 Liter; bei stark schwefelhaltigem Gas wird man mit der Verbrennung einiger Liter oder Deziliter Gas auskommen. Zur Bestimmung organisch gebundenen Schwefels in Gasen werden neuerdings auch Hydrierungsmethoden benützt. Man leitet z. B. nach der Methode von TER MEULEN das Gas, das wasserstoffhaltig sein muß, über erhitzten Platinasbest und ermittelt den entstandenen Schwefelwasserstoff nach irgendeinem der bekannten Verfahren, z. B. kolorimetrisch. Die Methode eignet sich allerdings nur für wasserstoffhaltige Gase, die nicht zuviel Kohlenwasserstoffe enthalten; diese machen durch Kohleabscheidung den Platinkontakt nach kurzer Zeit unwirksam.

In diesem Zusammenhange möge auch eine Methode zur Bestimmung der schwefligen Säure in der Luft erwähnt sein. Bekanntlich wird die Entstehung von Rauchschäden in erster Linie auf den Gehalt der Rauchgase an schwefliger Säure zurückgeführt, so daß es von Wichtigkeit ist, exakte Schnellmethoden zu deren

Bestimmung in der Luft zu besitzen. Zu diesem Zweck haben die Herren Dr. Zepf und Dr. Vetter in den Leunawerken eine Schnellmethode ausgearbeitet, die auf Absorption der schwefligen Säure nicht durch Jodlösung, sondern Jodjodkalistärkelösung beruht. Man wertet dann die Reaktion kolorimetrisch aus. Diese sehr empfindliche Schnellmethode, die noch auf 0,1 Teile schweflige Säure in 1 Million Teile Luft anspricht, gestattet mit wenigen Litern Luft in zwei bis sechs Minuten an Ort und Stelle eine Bestimmung auszuführen.

Ich komme nun auf die Spurensuche von Metallcarbonylen zu sprechen. Das bei den ersten Großversuchen in unserem Werk aus Kohlenoxyd und Wasserstoff katalytisch hergestellte Methanol zeigte anfangs die recht unangenehme Eigenschaft, bei der Weiterverarbeitung auf Formaldehyd den benutzten Kontakt durch Abscheidung geringer Eisenmengen zu schädigen. Als der störende Stoff erwies sich das Eisenpentacarbonyl, welches damals im synthetischen Methanol stets in geringer Menge enthalten war und durch Reaktion des Kohlenoxyds mit den Eisenteilen der Rohrleitungen und dergleichen immer in kleinen Mengen bei der Methanolsynthese entstand. Um nun in dem für die Synthese zur Verwendung gelangenden Kohlenoxyd-Wassserstoffgemisch die Eisencarbonylspuren zu bestimmen, machen wir von der leichten Zersetzbarkeit des Eisencarbonyls durch alkalisches Wasserstoffperoxyd Gebrauch, indem wir das von Flugstaub befreite Gas durch eine alkoholische, Wasserstoffperoxyd enthaltende Ammoniaklösung leiten und in dieser das als Eisenoxydhydrat abgeschiedene Eisen kolorimetrisch ermitteln. Bringt man z. B. 1 Liter des Gases zur Analyse, so können in diesem Liter mit der erwähnten Methode noch etwa 10 γ Eisenpentacarbonyl erfaßt werden.

In neuerer Zeit werden in unserem Werk Eisenpentacarbonyl, Nickel- und Kobalttetracarbonyl in großtechnischem Maßstab hergestellt. Diese Carbonyle dienen zur Gewinnung von reinstem Eisen, Nickel und Kobalt; Eisenpentacarbonyl wird außerdem noch als Zusatz zu Motortreibstoffen — das sogenannte Motalin — verwendet. Da diese Carbonyle, vor allem das sehr leichtflüchtige Nickelcarbonyl, für die Gesundheit der damit

Umgehenden schädlich sein können, mußten Methoden erdacht werden, um die Luft der Fabrikationsräume usw. auf ihren Gehalt an Carbonyldämpfen und an aus ihnen gegebenenfalls abgespaltenem Kohlenoxyd zu untersuchen. Dazu verfahren wir in folgender Weise: Man entnimmt dem Raum etwa 1 Liter Luft und schüttelt diese mit etwas konz. Salpetersäure kräftig durch; auf diese Weise werden die in der Luft enthaltenen Carbonyle in Kohlenoxyd und die betreffenden Metallnitrate zersetzt. Das freigemachte Kohlenoxyd wird dann nach entsprechender Reinigung in bekannter Weise über Jodpentoxyd ermittelt. Bei Verwendung von 1 Liter Luft lassen sich auf diese Weise noch etwa 10 γ der Carbonyle quantitativ erfassen; mittels des Geruchssinns sind z. B. noch 1,5 γ $Fe(CO)_5$ im Liter Luft durch den eigenartigen, metallischen Geruch des Carbonyls zu erkennen.

Die aus den Carbonylen durch thermische Zersetzung hergestellten Metalle, die sich durch einen sehr hohen Feinheitsgrad auszeichnen, können nun noch äußerst geringe Mengen von Kohlenoxyd und Wasserstoff enthalten, deren Menge gewöhnlich unter $^1/_{1000}$% liegt. Um das Kohlenoxyd in dem aus Eisenpentacarbonyl gewonnenen Eisen, dem sogenannten Carbonyleisen, zu bestimmen, benützen wir ein Verfahren, das auf der Lösung des Eisenpulvers in geeigneten Reagenzien und Ermittlung des freigemachten Kohlenoxyds über Jodpentoxyd beruht. Bei einer Einwaage von 10 g Eisenpulver lassen sich nach dieser Methode noch mindestens $^3/_{10\,000}$% Kohlenoxyd-Kohlenstoff erfassen. Zur Bestimmung des Wasserstoffes wird eine bestimmte Menge des Eisenpulvers entgast; die Gase werden mit Sauerstoff gemischt, über einen Oxydationskontakt geleitet und die entstandenen Wasserspuren mittels des von LINDNER für die Wasserstoffbestimmung in der Mikroelementaranalyse angegebenen Naphthyloxychlorphosphins ($C_{10}H_7POCl_2$) ermittelt. 1 Mol Wasser spaltet aus dem auf 105° C erhitzten Phosphin 2 Mole Chlorwasserstoff ab, der dann mikrotitrimetrisch ermittelt wird. Etwa $^2/_{10\,000}$% Wasserstoff im Carbonyleisen können auf diese Weise noch bestimmt werden.

Im Zusammenhang mit der Mikrogasanalyse möchte ich hier noch auf Arbeiten hinweisen, die die Toxikologie und

Hygiene des Kraftfahrwesens betreffen und in verschiedenen Laboratorien unserer Werke Oppau und Ludwigshafen zusammen mit dem Reichsgesundheitsamt ausgeführt wurden. Es handelte sich dabei um systematische Untersuchungen der Auspuffgase aus Verbrennungsmotoren sowohl in chemischer Hinsicht als auch im Tierversuch. Die hier interessierende chemische Untersuchung befaßte sich in der Hauptsache mit der quantitativen Bestimmung geringster Mengen CO, CO_2, CH_4 sowie leicht- und schwerflüchtiger Kohlenstoffverbindungen nebeneinander in der Luft, sowie der mikrochemischen Identifizierung der einzelnen, in den Auspuffgasen enthaltenen Kohlenstoffverbindungen, als welche ungesättigte Stoffe, Alkohole, Aceton, Phenole, Aldehyde, organische Säuren festgestellt wurden. Mit Hilfe dieser Methoden wurde z. B. festgestellt, daß in der Straßenluft Berlins an den verkehrsreichsten Stellen infolge des Kraftfahrzeugverkehres maximal 0,03 Vol.% CO auftreten. (Bekanntlich wirken 0,1 Vol.% CO in der Luft nach etwa zweistündiger Einatmung tödlich.) Aus dem maximal gefundenen Kohlenoxydgehalt der Luft und dem der Auspuffgase selbst wurde aber berechnet, daß sich die Auspuffgase der Kraftfahrzeuge sehr schnell auf das etwa 200fache verdünnen, so daß eine Gefährdung der Bevölkerung in den Straßen im allgemeinen nicht zu befürchten ist.

Noch kurz möchte ich Ihnen nun einiges über die von uns zurzeit benützten

mikroanalytischen Methoden,

die auf

physikalischer Grundlage

beruhen, mitteilen. Um mit den optischen Methoden zu beginnen, sei hier an erster Stelle das Gebiet der Mikrokolorimetrie erwähnt. Durch Verfeinerung der Instrumente ist diese Arbeitsweise in den letzten Jahren ziemlich ausgebaut worden; über eine Anzahl der von uns benützten mikrokolorimetrischen Methoden habe ich Ihnen bereits berichtet. Auch nephelometrische Verfahren wird man bei mikroanalytischen Arbeiten oft mit Vorteil benützen können. Ein weiteres, für den Mikroanalytiker wichtiges Hilfsmittel ist auch die Analysenquarzlampe, die

wir für die verschiedenen Fluoreszenzreaktionen oder unter Verwendung passender Hilfsapparate zu mikroskopischen Untersuchungen im ultravioletten Licht benützen. Mit dem Nephelometer kombiniert, lassen sich so auch quantitative Fluoreszenzanalysen ausführen, eine Arbeitsweise, die im Biolaboratorium unseres Oppauer Werkes in ausgedehntem Maße, z. B. zur Bestimmung gewisser Glykoside in Pflanzenteilen benützt wird. Weiter sei hier das Gebiet der qualitativen und quantitativen Spektralanalyse erwähnt, die in steigendem Maße ebenfalls für mikroanalytische Untersuchungen herangezogen wird. Mit Hilfe der Absorptionsspektralanalyse bestimmen wir z. B. kleinste Mengen von Benzol in Äthanol. Die quantitative Emissionsspektralanalyse nach der sogenannten Restlinienmethode leistet uns gute Dienste unter anderem bei der Reinheitsprüfung der aus den Metallcarbonylen hergestellten reinsten Metalle und dergleichen. Auch die von Gerlach und Schweitzer ausgearbeitete sogenannte absolute Methode der Emissionsspektralanalyse wird in unseren Laboratorien, besonders im physikalischen Laboratorium unseres J.-G.-Werkes Höchst, ausgiebig benützt; es sei hier z. B. der quantitative Nachweis kleinster Quecksilbermengen nach dieser Methode unter Verwendung einer sogenannten Hochfrequenzfunkenanregung erwähnt. Manchmal wird in besonderen Fällen auch die Röntgenspektroskopie bei der Spurensuche chemischer Stoffe wertvolle Dienste leisten. Die übrigen von uns für mikroanalytische Untersuchungen benützten physikalischen Methoden seien hier lediglich erwähnt: Die Schmelzpunktbestimmung mit dem Klein'schen Apparat, die Mikromolekulargewichtsbestimmung nach Sucharda-Bobranski und nach Rast, die Mikrosublimation in der Kempf'schen Apparatur, die Mikrokalorimetrie mittels der Roth'schen Anordnung, schließlich das Gebiet der Leitfähigkeitstitration nach Jander und Pfundt, der elektrometrischen Maßanalyse und der Ph-Messung. Auch könnte vielleicht für manche Untersuchungen chemisch-technischer Art die von Paneth und Ehrenberg ausgearbeitete radiometrische Mikroanalyse oder die Schlierenmethode nach Emich vorteilhaft benützt werden. Näher möchte ich noch kurz auf einige von uns bei mikro-

analytischen Untersuchungen verwendete Hochvakuummethoden eingehen. Um z. B. Spuren organischer Kohlenstoffverbindungen in der Luft zu bestimmen, werden einige Liter Luft durch ein mit der PREGL'schen Universalfüllung versehenes Verbrennungsröhrchen geleitet und die entstandenen Kohlensäurespuren mittels flüssiger Luft ausgefroren. Man läßt dann die Kohlensäure im Hochvakuum in ein bekanntes Volumen verdampfen und mißt die Druckzunahme in diesem Volumen. 4 γ CO_2, entsprechend 1 γ C, können auf diese Weise noch erfaßt werden. Auch für die Bestimmung kleinster Mengen von Kohlenstoff in Eisen, z. B. in dem aus Eisencarbonyl gewonnenen, sehr reinen Carbonyleisen, benützen wir dieses Verfahren, das noch die Erfassung von $^1/_{10\,000}$% Kohlenstoff gestattet. Mit einer Hochvakuummethode ermitteln wir ferner auch den Sauerstoffgehalt in Metallen. Das im Hochvakuum freigemachte sauerstoffhaltige Gasgemisch wird im Mikroorsatapparat auf seinen Sauerstoffgehalt untersucht. 500 γ Sauerstoff können noch sicher bestimmt werden.

Ich komme nun zum Schluß meiner Ausführungen und möchte Ihnen an Hand der uns bekannt gewordenen einschlägigen Literatur noch kurz von anderen Industrien berichten, die bei ihren verschiedenartigsten Untersuchungen ebenfalls Mikromethoden verwenden. In der metallerzeugenden und metallverarbeitenden Industrie können mikroelektroanalytische Methoden, z. B. zur Analyse von Legierungen und dergleichen, weitgehend benützt werden; auch liegen Arbeiten über die Verwendung mikrochemischer Methoden bei metallographischen Untersuchungen vor. Im Punzierungswesen bei der Analyse von Edelmetallegierungen werden ebenfalls mikrochemische Verfahren benützt, wie es auch eine Mikrostahlanalyse gibt. Für metallurgische Untersuchungen findet jetzt auch die Spektralanalyse weitgehend Verwendung; ich erwähne als Beispiel die laufende Prüfung von Reinblei auf Verunreinigungen in Akkumulatorenfabriken. Die Gärungsindustrie bestimmt den Stickstoffgehalt der Gersten, des Malzes, der Hefe und Melasse mikroanalytisch, und auch die ledererzeugende und -verarbeitende Industrie verwendet bei ihren Untersuchungen mit Vorteil Mikromethoden. In den pharmazeutischen Betrieben wer-

den zur Untersuchung der Arzneimittel ebenfalls längst mikrochemische Verfahren benützt; vielleicht besteht die Möglichkeit, daß diese Verfahren auch einmal in die amtlichen Bücher der Arzneimittelprüfung, die Pharmakopöen, Eingang finden. Es sei ferner auf die nahrungsmittelchemischen Betriebe und Untersuchungsstationen hingewiesen, in denen man mikroanalytische Methoden in ziemlicher Anzahl antrifft. So werden Mikromethoden benützt, z. B. zur Fettbestimmung in Milch, Glyzerinbestimmung in Fetten, Kleberbestimmung in Mehlen, Koffeinbestimmung im Kaffee, weiter zur Ermittlung von Konservierungsmitteln in Lebensmitteln, zur Bestimmung der schwefligen Säure in Wein und Fruchtsäften usw. Auch auf einem Gebiet, das zwar nicht eigentlich zur Technik gehört, aber mit ihr eng verbunden ist, nämlich bei gewerbehygienischen Untersuchungen, finden Mikromethoden weitgehend Verwendung.

Zusammenfassend darf wohl gesagt werden, daß die mikroanalytische Methodik, einstens ausschließlich für rein wissenschaftliche Forschung geschaffen, heute auch in den Laboratorien der Technik für deren Untersuchungen schlechthin nicht mehr entbehrt werden kann; es dürfte unseres Erachtens wohl kein Laboratorium der Industrie geben, das nicht irgendwie für seine Zwecke Mikromethoden zu seinem Vorteil anwenden könnte.

Mikrochemie in der Metallkunde.

Von **M. Nießner.**

Institut für anorganische Technologie der Technischen Hochschule Wien.

In der Geschichte der Wissenschaft findet man immer wieder, daß jede neue Forschungsrichtung sich zunächst enge Ziele steckt. Impulse zu einer Weiterentwicklung und Vervollkommnung in bestimmten Richtungen sind stets erst dann zu beobachten, wenn nach Erkennung neuer Zusammenhänge von anderen Gebieten her bestimmte Forderungen und Aufgaben gestellt werden. Das gleiche gilt auch für die Mikrochemie. Es gibt heute kaum ein Gebiet der reinen und angewandten Chemie, welches nicht bis zu einem gewissen Maße an der Mikrochemie und deren Weiterent-

wicklung interessiert wäre. Während die anorganische und organische Chemie, die Medizin, Biologie und physiologische Chemie schon längst bestimmte Forderungen, vornehmlich solche nach dem Ausbau expeditiver analytischer Methoden an die Mikrochemie gestellt haben, die zum großen Teil auch tatsächlich erfüllt worden sind, hat die Metallkunde erst in allerletzter Zeit die praktische Bedeutung mikrochemischer Methoden erkannt.

Wenn wir uns nun fragen, welche Probleme in der Metallkunde mit Hilfe mikrochemischer Methoden eine Lösung erwarten lassen, so ist es klar, daß es nur solche sein können, die nicht synthetischer, sondern analytischer Natur sind. Die für die Metallkunde in Frage stehenden mikrochemischen Probleme hängen unmittelbar mit der Erfahrung zusammen, daß kleine Stoffmengen einen verschiedentlichen, oft ganz gewaltigen Einfluß auf die Qualität der metallischen Werkstoffe besitzen. So können kleine Stoffmengen in homogener Verteilung, die gewissermaßen in fester Lösung vorliegen, auf die Güte (Festigkeit, Dehnung, Leitfähigkeit usw.) außerordentlich einwirken, und zwar sowohl im Sinne einer Qualitätsveredlung als auch in umgekehrter Weise, nämlich der Qualitätsverminderung. Deshalb ist die Möglichkeit der Feststellung einer Verteilung von Spuren bestimmter Stoffe in anderen, die sich nicht durch optische Methoden erkennen läßt, von ausschlaggebender Wichtigkeit (z. B. As oder P in Cu). Noch wichtiger als die Indentifizierung kleiner Mengen gelöster Stoffe erscheint die Aufgabe, Inhomogenitäten, welche mit freiem oder bewaffnetem Auge sichtbar sind, einer genauen chemischen Identifizierung zugänglich zu machen. Es ist eine technisch schon längst bekannte Tatsache, daß z. B. Seigerungen in nicht überstarkem Maße die Werkstoffeigenschaften nicht wesentlich beeinflussen, hingegen großen Schaden anrichten können, wenn ein Werkstoff so sehr mit ihnen durchsetzt ist, daß die Grenze des Zulässigen überschritten wird (z. B. Rotbruch durch Schwefel, Kaltbruch durch Phosphor). Für die Metallkunde ist es daher von besonderer Wichtigkeit, schnelle und sichere Methoden für derartige Bestimmungen zu besitzen. Dabei können Ungleichheiten im Gefüge einerseits als Inhomogenitäten zwischen Metallen, anderseits als solche zwischen Metallen und Nichtmetallen erscheinen. Alle bisher genannten Probleme der Metallkunde,

deren Lösung erwünscht ist, betrafen das innere Gefüge von Werkstoffen, das etwa durch einen Schnitt, bezw. Herstellung eines Schliffes freigelegt werden kann. Ganz analoge Probleme ergeben sich für die freie Oberfläche metallischer Werkstoffe. So ist z. B. die Feststellung der Homogenität von Oberflächen, Überzügen, für Qualitätsbeurteilung technisch vielfach von großer Bedeutung. Insbesondere für die wichtigen Probleme der Korrosion ist die Beantwortung derartiger Fragen oft von entscheidender Wichtigkeit.

Nach alldem läßt sich daher das mikrochemische Problem in der Metallkunde auf die einfache Formel bringen: schnellste und eindeutige Erkennung kleinster Stoffmengen, womöglich auch Feststellung deren örtlicher Lagerung, neben oder in außerordentlich großen Metallmengen. Zur Erkennung sowie zur örtlichen Feststellung kleiner Stoffmengen verlangt die Metallkunde, häufig schon aus betriebstechnischen Gründen, möglichst einfache, leicht durchführbare Verfahren. Diese Forderung trifft unmittelbar auf eine mikroanalytische Forschungsrichtung, die in jüngster Zeit vornehmlich von F. Feigl und dessen Schülern mit bestem Erfolge bearbeitet worden ist. Diese Forschungsrichtung hat eine Reihe außerordentlich empfindlicher und spezifischer Nachweismöglichkeiten geschaffen, deren Anwendbarkeit für die in Frage stehenden Zwecke vielfach noch die Notwendigkeit zu beachten hat, die örtliche Lokalisierung von Stoffen weitestgehend zu berücksichtigen, da ja gerade diese für die Zwecke der Metallkunde von allergrößter Wichtigkeit ist.

Einen Hinweis auf eine zweckdienliche Adaptierung von brauchbaren Nachweismethoden für metallkundliche Zwecke bot die bisher nur für den Nachweis von Schwefelseigerungen im Eisen verwendete Methode von E. Heyn und O. Bauer, die darauf beruht, durch Abpressen eines Schliffes auf eine geeignete Unterlage ein Abdruckbild zu erzeugen, welches die Lokalisation von Schwefelseigerungen aufzeigt. Unter Zugrundelegung dieser besonderen Technik lassen sich eine Reihe von Problemen der Metallkunde behandeln, die bisher mangels geeigneter Reaktionen und einer entsprechenden Versuchstechnik einer Bearbeitung nicht zugänglich waren.

Ein Nachweis von Kupfer, Kobalt und Nickel ist mit der von P. RÂY aufgefundenen Reaktion dieser Elemente mit Rubeanwasserstoffsäure durchführbar. Um die genannten Metalle mit diesem Reagens nachzuweisen, tränkt man Gelatinpapier in Salpetersäure, preßt dasselbe auf das zu untersuchende Metall und nach einer Einwirkungszeit von zirka fünf Minuten wird der Abdruck in alkoholischer Lösung von Rubeanwasserstoffsäure entwickelt. Während unmittelbar nach dem Abheben des Gelatinpapiers vom Metallschliff dasselbe vollkommen weiß erscheint, bilden sich erst beim Entwickeln in der alkoholischen Lösung von Rubeanwasserstoffsäure die verschiedenfarbigen Rubeanate von Cu, Co, Ni. Es liegt hier ein typisches Entwicklungsverfahren vor. (Demonstration.)

In analoger Weise läßt sich Nickel mittels Dimethylglyoxim erkennen; auch hier wird wieder Gelatinpapier, bezw. ein Film verwendet, der nach Abdruck in alkoholischer Dimethylglyoximlösung entwickelt wird. (Demonstration.)

Ein spezifischer, mikrochemischer Nachweis von Kupfer läßt sich mit Benzoinoxim nach F. FEIGL führen, indem nur mit Kupfer ein unlösliches, grünes Salz entsteht. Auch diese Reaktion kann zur Herstellung eines Abdruckes verwendet werden. (Demonstration.)

Handelt es sich darum, mittels eines Abdruckverfahrens Kobalt nachzuweisen, so ist dies ebenfalls mit Rubeanwasserstoffsäure, unter Einhaltung bestimmter Bedingungen auch neben Nickel und Kupfer, möglich. (Demonstration.)

Eine gleichmäßige Farbe von Abdrucken läßt stets schließen, daß ein Metall entweder als solches vorliegt oder in einem oder mehreren anderen Metallen homogen gelöst ist, wie dies bei Legierungen der Fall ist. Trifft dies nicht zu, ist das Metall im Grundmetall nicht oder ungleichmäßig gelöst, dann ist dies auch im Abdruck in Form von miteinander nicht zusammenhängenden Stellen zu erkennen. Im Verlauf einer Untersuchung über das System Fe-Cu konnte z. B. ungelöstes Kupfer im Eisen mittels der früher genannten Abdruckverfahren festgestellt werden. (Demonstration.)

Die bisher besprochenen Beispiele betrafen Abdrucke von homogenen Metallen, bezw. Legierungen.

Für den Nachweis von Inhomogenitäten sei die Erkennung von Schwefelseigerungen in Eisen herangezogen. Für diese Erkennung war das schon früher genannte Abdruckverfahren von E. Heyn und dessen Modifikation nach O. Baumann in der Metallkunde üblich. Das erstgenannte Verfahren besteht darin, einen Schliff auf ein mit salzsaurer Sublimatlösung imprägniertes Gewebe aufzupressen, wonach dann gelbe und dunkelbraune bis schwarze Abdruckflecke entstehen. Man nahm an, daß die gelben vom gebildeten Quecksilberphosphid und die braunen bis schwarzen Flecke vom Quecksilbersulfid herrührten. Mit Hilfe der Feigl'schen Jod-Azid-Reaktion gelang es mir nachzuweisen, daß diese Annahme eine irrige ist, da sowohl die gelben als auch die schwarzen Stellen des Abdruckes von Schwefelseigerungen herrühren, weil beide die für Sulfide typische Reaktion der für sich allein nicht erfolgenden Umsetzungen von Jod und Natriumazid unter Stickstoffentwicklung auslösen.

Wie bereits bemerkt, ist die Annahme, daß die gelben Flecken im Heyn'schen Abdruckverfahren von Phosphorseigerungen herrühren, nicht zutreffend. Die Abwesenheit von Phosphor ließ sich dadurch feststellen, daß nach fünf Abdrucken mittels Filtrierpapiers in der Asche desselben durch eine mikrochemische Reaktion nach F. Feigl kein P_2O_5 feststellbar war, was unbedingt hätte der Fall sein müssen, wenn tatsächlich Abdrücke von Phosphorseigerungen entstanden wären. In welcher Art man jedoch Phosphorseigerungen mittels mikrochemischer Verfahren erkennen kann, möge folgendes Verfahren erläutern: Auf das zu untersuchende, vorher geschliffene Metallstück wird ein in salpetersaurer Ammonmolybdatlösung getränktes Filterpapier gebracht, das Papier zirka fünf Minuten auf den Schliff gepreßt und nachher das Filterpapier in salzsaurer Zinnchlorürlösung gebadet. Nach F. Feigl verläuft die Reaktion derart, daß P_2O_5 eine bleibende Blaufärbung verursacht; im Abdruck tritt demnach an allen Stellen, wo Phosphor vorhanden war, Blaufärbung auf, während P_2O_5-freie Stellen farblos werden. Geseigerte Stellen zeigen starke Blaufärbung in schwach gefärbter Umgebung, während gleichmäßige Färbung von gleichmäßiger Verteilung, bezw. Lösung des Phosphors im Eisen herrührt. (Demonstration.)

Als ein weiteres Beispiel für die mikrochemische Erfassung von

Einschlüssen sei noch der Nachweis von oxydischen Einschlüssen in Eisen und Stahl vorgeführt. Bekanntlich reagiert Kaliumferrocyanid mit Ferrisalzen in saurer Lösung unter Bildung von Berlinerblau und umgekehrt Kaliumferricyanid mit Ferrosalzen ebenfalls in saurer Lösung unter Bildung von Turnbullsblau. Beide Reaktionen sind von äußerst großer Empfindlichkeit. Diese große Empfindlichkeit ermöglicht die Erfassung der mikroskopisch kleinen Einschlüsse von Eisenoxyden. Der Nachweis erfolgt derart, daß Gelatinepapier mit einer alkalischen Ferro-, bezw. Ferricyankalilösung getränkt, das nicht zu feuchte Papier auf den zu prüfenden Metallschliff gepreßt wird und nach zirka fünf Minuten langer Einwirkung das Papier in verdünnter Mineralsäure (Salzsäure) gebadet wird. Dadurch kommt es im Abdruck zur Bildung von Berliner-, bezw. Turnbullsblau. Reines Eisen gibt bei diesem Verfahren keine Blaufärbung, da eben nur die anwesenden Oxyde durch die Einwirkung des Alkali der Eisencyanidlösung zunächst spurenweise gelöst und später erst durch das Säurebad mit dem Cyanid zur Reaktion gebracht werden. Interessant ist, daß Einschlüsse, die nur mit dem Mikroskop wahrnehmbar sind, auch im Abdruck, also makroskopisch sichtbar werden. Diese Erscheinung ist jedenfalls durch die Kapillarwirkung des Papiers, bezw. Diffusion in der Gelatineschicht zu erklären. (Demonstration.)

Durch die vorgeführten Beispiele, deren eingehende Beschreibung an anderer Stelle erfolgen wird, hoffe ich gezeigt zu haben, daß eine Reihe wichtiger Fragen der Metallkunde mit Hilfe mikrochemischer Methoden einer Lösung zugeführt werden können; durch diese lassen sich in schnellster und einfachster Weise und, was gleichfalls nicht unwichtig ist, mit sehr billigen Behelfen eine Reihe für die Metallkunde sehr wichtiger Feststellungen machen. Abdruckbilder der vorgeführten Art können gewissermaßen als Dauerpräparate dienen und dadurch oft dokumentarischen Wert erlangen. Es ist jedenfalls zu erwarten, daß weitere Versuche in der in diesem Vortrag angegebenen Richtung noch manche wertvolle Ergebnisse liefern werden, nicht nur zum Vorteil der Metallkunde, sondern auch zum weiteren Ausbau mikrochemischer Methoden.

Über Tüpfelreaktionen.

Von **P. Krumholz.**

II. Chemisches Universitätsinstitut Wien.

Siehe Zeitschrift für angewandte Chemie, Nr. 23, 453, 1931.

(Vgl. auch MIKROCHEMIE, IX, 395.)

Über Mikrogasanalyse.

Von **Hans Löffler.**

Beh. autor. Versuchsanstalt für Heiz- und Gastechnik, Wien, XVIII.

Wenn über Mikrogasanalyse hier gesprochen werden soll, so sei vorweg festgestellt, daß nur alle jene Prozesse mitinbegriffen sein sollen, bei welchen als Endzweck die Ermittlung der Zusammensetzung eines Gasgemisches gegeben ist, bei welchen es sich also um die Bestimmung der perzentuellen Anteile von Gasen in Gasgemischen handelt.

Unter Verwendung der bereits von KROGH zum Teil festgelegten und vorgeschlagenen Bezeichnungen wird folgende Abgrenzung der Gebiete der Gasanalyse als zweckmäßig erachtet:

Die Bezeichnung Makrogasanalyse für die Analyse von Gasmengen bis zu minimal 10 ccm,

die Bezeichnung Mikrogasanalyse für die Analyse von Gasmengen von 1 cmm bis 10 ccm,

die Bezeichnung Mikroskopische Gasanalyse für die Analyse von Gasmengen unter 1 cmm, wobei als untere Grenze der Wert von 0,01 cmm gelten kann. Derartige Untersuchungen können zum Unterschied von denen der beiden vorhergegangenen Gruppen nur unter dem Mikroskop ausgeführt werden, weshalb ihre Sonderstellung berechtigt erscheint.

Gewichtsmäßig stellt sich diese Dreiteilung des Gesamtgebietes der Gasanalyse, bei Annahme eines Litergewichtes des Gases von zirka 1 g, wie folgt dar:

Gruppe 1, Mikrogasanalyse . . . bis zu 0,01 g,
Gruppe 2, Mikrogasanalyse . . . von 0,01 bis 0,00001 g,
Gruppe 3, mikroskop. Gasanalyse . von 0,00001 bis 0,0000001 g.

Diese Teilgebiete sind nicht gleichmäßig stark in Anspruch genommen, das heißt, es weist nahezu jedes der drei Teilgebiete bevorzugte Volumsbereiche auf, wobei noch eine Sonderung der Methoden rein chemischer Natur von solchen physikalischer Art vorgenommen werden muß. Die Methoden, welche eine Daueranzeige der Gaszusammensetzung im fließenden Gasstrom bezwecken, müssen hier abseits stehen. Ihre Einreihung in eines der drei Teilgebiete ist nicht ohne weiteres möglich, da ihre Vornahme nur im Gasstrom möglich ist, also nur bei großen Gasmengen, anderseits die zur Anzeige nötige Gasmenge oft nur wenige Kubikzentimeter beträgt. Es muß Ansichtssache bleiben, sie unter die Gruppe der Makro- oder Mikrogasanalysenmethoden aufzunehmen. Eine Daueranzeige von Gaszusammensetzungsänderung der dritten Gruppe, der mikroskopischen Gasanalyse, ist derzeit nicht bekannt.

Die chemische Makrogasanalyse arbeitet normalerweise mit Gasmengen von 100 oder 50 ccm und geht selten unter 50 ccm herunter.

Die chemische Mikrogasanalyse verwendet normalerweise 10 bis 100 cmm, erfaßt daher nicht den ihr zur Verfügung stehenden Bereich, während die mikroskopische Gasanalyse ihren Arbeitsbereich, 1 cmm bis 0,01 cmm, zur Gänze benötigt.

Die physikalischen Gasuntersuchungsmethoden, soweit sie zur Ermittlung der Gaszusammensetzung dienen, also unter Ausschaltung der Methoden der Dichtebestimmung, der Ermittlung der Entzündungsgeschwindigkeit, des Heizwertes, gehören in das Gebiet der Makro-, bezw. in das der Mikrogasanalyse, wobei an die Methoden der Gasinterferometrie, der Verwendung der Wärmeleitfähigkeit und des Brechungsvermögens gedacht ist.

Der Unterschied zwischen technischer und wissenschaftlicher Gasanalyse tritt immer mehr in den Hintergrund, da die Anforderungen, die der Betrieb heute in bezug auf Genauigkeit stellt, nur durch Anwendung der verläßlichsten Methoden erfüllt werden können. Er verschwindet daher naturgemäß auch im Gebiete der Mikrogasanalyse, da hier von vornherein nur exakte Methoden verwendet werden können. Die mikroskopische Gasanalyse ist hingegen heute noch nicht so durchgebildet, daß die Genauigkeit

immer befriedigen könnte, sie wird aber auch nur dort angewendet, wo die Geringfügigkeit der vorhandenen Gasmenge sie unentbehrlich macht.

Die Beweggründe, die zur Heranbildung der Technik der Mikrogasanalyse, respektive der mikroskopischen Gasanalyse geführt haben, sind denn auch verschiedene:

Die Mikrogasanalyse entstand aus dem Bedürfnis, Behelfe verwenden zu können, deren geringer Platzbedarf einen Vorteil bedeutet, wobei, speziell bei der Analyse von Gasen, das Moment der immer schwieriger werdenden Probenahme in bezug auf Verläßlichkeit der Durchschnittswerte, das bei festen und auch flüssigen Stoffen Geltung hat, hier ganz wegfällt. Die Mikrogasanalyse bringt weiters infolge der durch die kleinen Gasmengen bedingten kurzen Reaktionszeiten Ersparnisse an Zeit, durch die kleineren Apparaturen Ersparnisse an Material mit sich.

Die Mikrogasanalyse ist somit als eine verfeinerte Methodik der Makrogasanalyse anzusehen, und ihre allgemein werdende Anwendung, besonders in Betracht des Fortfallens jeder Schwierigkeit, bei der Probenahme bevorstehend.

Die mikroskopische Gasanalyse entstand wieder, wie bereits einmal gesagt wurde, aus der Notwendigkeit, auch aus Gasmengen von nur 1 cmm oder weniger die Zusammensetzung kennenzulernen.

Zum Thema des heutigen Vortrages wurde lediglich die Mikrogasanalyse oder, wie man sie auch bezeichnen könnte, die Zukunftsgasanalyse gewählt. Auf die Methoden der mikroskopischen Gasanalyse, welche von denen der Makro- und Mikrogasanalyse stark verschieden sind, braucht daher hier nicht weiter eingegangen zu werden.

Der Vorteil der Mikrogasanalyse birgt noch den weiteren Vorteil der raschen Ausführung vieler Analysen hintereinander in sich, wodurch der Ablauf bestimmter Prozesse übersehen werden kann. Unter die mikrogasanalytischen Methoden sollen auch noch alle jene eingereiht werden, bei denen in einer verhältnismäßig großen Gasmenge (Liter) ein nur in Bruchteilen von Prozenten sich befindlicher Gasbestandteil bestimmt werden soll.

Wenn eben behauptet wurde, daß die Mikrogasanalyse imstande sein könnte, die heutigen Methoden der Gasanalyse, der Makrogasanalyse, zu verdrängen, so wird es um so lehrreicher sein, jene

Gebiete aufzusuchen, in denen diese Verdrängung bereits heute gelungen ist, in denen die Mikrogasanalyse bereits volle Anerkennung findet. Bahnbrechend waren hier die Biologen, welche, von vornherein an subtile Arbeitsweise gewöhnt, meistens auch nur eine Gasmenge zur Verfügung haben, die maximal einige Kubikzentimeter beträgt. Die Technik der Blutgasanalyse, welche in der Untersuchung der in dem Blute des tierischen Körpers gelösten Gase besteht, entnimmt diese durch starke Verminderung des Partialdruckes über der Blutoberfläche. Die Apparate, welche im Prinzip aus einer Vakuumpumpe, aus einer Erwärmungsvorrichtung für das zu entgasende Blut, und einem Gasaufnahmebehälter bestehen, sind seit drei Dezennien in zahlreichen Modifikationen, aber auch hier immer mit dem Bestreben, zu immer kleiner werdenden Instrumenten zu kommen, hergestellt worden.

Die Apparate zur Untersuchung der Blutgase bestehen aus Meßbüretten von zirka 1 bis 5 ccm Gesamtinhalt, kapillaren Verbindungen mit den Absorptionsflüssigkeitsgefäßen, wobei sich die gesamte Apparatur unter Wasser befindet und die Ablesung von Thermometer und Gasvolumen mittels Fernrohr vorgenommen wird.

Kommt man mit der zu verwendenden Gasmenge bis zu zirka 1 cmm, so zeigt sich, daß eine weitere Verringerung des Volumens nicht mehr leicht möglich ist, ohne die Genauigkeit der Ergebnisse der Analyse nachteilig zu beeinflussen, da die Überführungsschwierigkeiten immer größer, die Vermeidung von Verlusten immer leicht möglich wird.

Die Arbeit mit kleinen Gasmengen wird aber wieder durchführbar, wenn man zu Mengen von zirka 200 cmm oder 0,2 ccm übergeht. Dies ist die Größenordnung von Gasbläschen, die sich dann in einer Flüssigkeit frei beweglich erhalten lassen und dadurch wieder mit einiger Geschicklichkeit gehandhabt werden können. Die Mikrogasanalyse weist somit ein Volumsgebiet von 1 ccm bis 0,1 ccm auf, in dem sich derzeit keine verläßliche Arbeitsmethodik herausbilden konnte.

Geschieht die Überführung der Gasmengen in Form frei in der Flüssigkeit beweglichen Gasbläschen, so erfolgt die Volumsbestimmung in fein kalibrierten Meßbüretten, welche gewöhnlich einen Durchmesser von 0,3 bis 0,2 mm aufweisen und selbstver-

ständlich von einem Wassermantel umgeben sind. Die vollständige und sorgfältige Reinhaltung der Apparatur sowie der verwendeten Sperrflüssigkeiten ist das wichtigste Haupterfordernis für das Gelingen einer Analyse.

Die Absorptionsanalyse verwendet im Prinzip ungefähr die gleichen Reagenzien wie die Makrogasanalyse, nur daß auch hier wieder auf besondere Reinheit der Reagenzien zu achten ist. Die Absorption wird in der Meßbürette selbst vorgenommen, deren Ende trichterförmig auf zirka 1 bis 2 mm erweitert ist. In diesem Trichter wird, in entsprechender Lage der Bürette, die Flüssigkeit, Kalilauge, Pyrogallol usw., eingebracht und das in der Kapillare abgemessene Gas langsam vorgeschoben. Nach den Reinigungsprozeduren wird nach der in höchstens einer Minute bei Kohlendioxyd und Sauerstoff, in längstens fünf Minuten bei Kohlenoxyd erfolgten Absorption das Gas wieder in die Kapillarbürette zurückgeschoben und bei Notierung des Temperaturwertes abgemessen. Die Genauigkeit dieser Analysen ist groß, hängt aber sehr von der Reinheit der Apparatur ab; dies ist in gewisser Hinsicht als Vorteil zu werten, da bei verunreinigter Apparatur die Bestimmung derart unmögliche Werte liefert, daß eine Selbsttäuschung ausgeschlossen ist. Man bekommt eben richtige oder ganz unrichtige Werte, und alle die Übergänge wie bei der Makroanalyse schließen sich hier von selbst aus. Die Sicherheit der Methode ist also groß. Das Gesagte gilt vor allem für die Bestimmung von Sauerstoff und Kohlenoxyd, während bei Kohlensäure wegen der Aufnahme durch Feuchtigkeitsspuren und wegen eventuellen Vorhandenseins kleinster Mengen von Alkalien in saurer Reaktion rasch gearbeitet werden muß.

Die Mikroverbrennungsgasanalyse verwendet etwas weitere Kapillaren, zirka 1 mm Durchmesser, infolgedessen auch etwas größere Gasmengen, 150 bis 100 cmm; nach Entfernen von Kohlensäure, Sauerstoff, eventuell auch Kohlenoxyd durch Absorption wird die Verbrennung mit feinem Platindraht, der in die trichterförmige Erweiterung der Meßkapillare eingebracht und elektrisch erhitzt wird, vollzogen. Enthält das Gas zu wenig Sauerstoff, so ist dieser in Bläschenform dem Gas vorher zuzumischen. Eine Fehlerquelle kann unter Umständen eine explosionsartige Verbrennung bilden, welche aber durch sehr langsames Erhitzen

des Platindrahtes mit Sicherheit vermieden werden kann. Ebenso ist eine fraktionierte Verbrennung durch genaue Einhaltung bestimmter Drahttemperaturen und genauer Beobachtung der Gasblase möglich. Die Berechnung der einzelnen Gasanteile der Verbrennungsanalyse ist der der Makrogasverbrennungsanalyse gleich und erfolgt aus Messung der Volumsverminderung durch Wasserbildung wie durch Kohlensäureabsorption.

Muß man zur Mikrogasanalyse greifen, wenn nur wenig Gas vorhanden ist, wie es auf biologischen und medizinischen Arbeitsgebieten der Fall ist, oder wenn die durch starke Verdünnung verbleibenden Gasreste untersucht werden müssen, so kann man es aber auch in allen anderen Fällen nur mit Vorteil tun. Es ist unbestreitbar, daß die Methoden der Mikrogasanalyse, also die Methoden der biologischen und medizinischen Gasanalyse, einen Fortschritt vorstellen, von dem noch nicht genügend allgemeiner Gebrauch gemacht wird. Es sei nochmals betont, daß in der Mikrogasanalyse der sonst ja einige Geltung verdienende Einwand der Schwierigkeit bei Probenahme vollständig in Wegfall kommt.

Man kann wohl mit einer Methode, welche aus kleinsten Gasmengen Werte zu liefern imstande ist, Durchschnittswerte über bestimmte Zeit gewinnen, wenn man v o r der Analyse für Erhalt einer verläßlichen Sammelprobe Rechnung getragen hat. Man kann aber n i c h t mit den Methoden der Makrogasanalyse bei einem Gasanfall von nur einigen Litern den Verlauf der Zusammensetzungsänderungen verfolgen. Bildlich gesprochen ist die Makrogasanalyse mit der Tätigkeit eines Zeichners zu vergleichen, der mühsam einzelne Phasen einer Bewegungsstudie festhält, während die Mikrogasanalyse der Produktionsfähigkeit der Kinematographie entspricht.

Daß eine Untersuchungstätigkeit, welche aus ihre Zusammensetzung rasch wechselnden Gasproben sofort Einzelwerte zu liefern imstande ist, der Technik unschätzbare Vorteile bietet, sei an zwei von vielen möglichen Beispielen gezeigt.

Die Analyse von Rauchgasen wird heute noch fast ohne Ausnahme mittels des Orsats in einer der unzähligen Modifikationen vorgenommen, wenn es sich darum handelt, anläßlich Aufnahme einer Wärmebilanz möglichst viele Einzelwerte zu erhalten. Sind registrierende Instrumente vorhanden, so können diese zu dem an-

gegebenen Zweck ebenfalls verwendet werden, der Orsat übernimmt dann die Kontrolle der richtigen Funktion dieser Apparate. Unzulänglich werden aber diese Methoden, wenn das sogenannte Verbrennungsbild aufgenommen werden soll, wenn, was speziell bei handbedienten Feuerungen von Wichtigkeit ist, die Kohlensäurekurve von einmal Aufwerfen des Brennstoffes bis zum nächsten Mal erhalten werden soll. Auch die diversen registrierenden und daueranzeigenden Apparate müssen hier versagen, weil sie zu große Nacheilung besitzen und außerdem immer nur Mittelwerte aus einer bestimmten Gasportion angeben. Der von ihnen reproduzierte Kurvenverlauf ist mit dem wirklichen Vorgang nicht vergleichbar, da die Maxima und Minima wesentlich gedrückt sind. Mittels mikrogasanalytischer Untersuchungsbehelfe stößt es auf keine Schwierigkeit, pro Minute drei Kohlensäurewerte zu erhalten, welche sich mit zirka $^1/_3\%$ Genauigkeit in Kurvenform aneinanderreihen lassen und so den gewünschten Einblick in den Verbrennungsablauf ermöglichen.

Ein zweites Beispiel betrifft die Ausführung von Analysen von brennbaren Gasen, wie Gichtgas, Generatorgas.

Mittels des Mikrogaskalorimeters ist die Durchführung derartiger Analysen, bei gleichzeitiger Ermittlung des oberen wie unteren Heizwertes, bei Verwendung von nur einigen Kubikzentimeter Gas möglich. Gleichzeitig können aber damit außerdem die Grenzen der Explosionsfähigkeit sowie die enger liegenden Grenzen der vollkommenen Verbrennung erhalten werden.

Es mag hier erwähnt werden, daß sonst die Bestimmung des Gasheizwertes nur mit bedeutend größeren Gasmengen durchführbar ist, daher eine direkte Bestimmung überall dort, wo nur kleine Mengen vorhanden sein können, unterbleiben mußte, eventuell auf dem Wege einer Berechnung aus den einzelnen brennbaren Anteilen vorgenommen werden konnte. Es trifft dies zu für die durch die Lebenstätigkeit bestimmter Bakterienarten erzeugten Gase, welche in den Kulturversuchen in der Menge von einigen Kubikzentimetern erhalten werden. Für die Beurteilung des Energieumsatzes durch diese Lebenstätigkeit ist aber die direkte Kalorienermittlung bedeutend wertvoller.

Das Mikrogaskalorimeter selbst besteht aus einer durch ein Niveaugefäß und einen Wechselhahn zu betätigenden Umpump-

vorrichtung, wobei als Sperrflüssigkeit Quecksilber verwendet ist. Das Gas wird, falls nötig, auch unter Vermeidbarkeit jedes Gasverlustes in eine wasserumgebene Meßbürette geleitet und durch Nivellieren ausgemessen. Durch Umleitung in eine mit Quarzfilter versehene Absorptionspatrone kann der Kohlensäuregehalt vorher bestimmt werden. Durch Mischung des Gasrestes mit beliebig abzumessender Luftmenge sowie durch Verpuffung wird die dem Gas zukommende Kalorienmenge frei und zur Gänze auf die Kugel eines Quecksilberthermometers übertragen, welche sich im Innern des Explosionsraumes, ebenfalls einer Kugel, geschützt durch ein DEWAR-Vakuum, befindet. Durch Messung des nach der Verpuffung entstandenen Unterdruckes wie der nach der Verbrennung entstandenen Kohlensäure kann die Zusammensetzung ermittelt werden; bei Wiederholung des Versuches unter anderem Luftmischungsverhältnis können die Grenzen der Explosionsfähigkeit wie die der vollkommenen Verbrennung angegeben werden.

Speziell in der Brennstoffchemie, bei Anstellung von Entgasungsversuchen, aber auch zur Trennung von Wasserstoff-Methan-Gemischen, ist diese Arbeitsweise recht befriedigend, denn sie allein gestattet es, speziell bei Entgasungsversuchen, Zusammensetzung und Heizwert laufend zu ermitteln und die Werte zu einem Kurvenbild zusammenzutragen.

Wenn ich das Gebrachte überblicke, so will ich auch gleichzeitig der meinen Ausführungen zugrunde liegenden Tendenz zum Ausdruck verhelfen:

Die Methoden der Untersuchung von Gasen bei Verwendung von Gasmengen unter 10 ccm weisen einen hohen Genauigkeitsgrad auf, der an den der exakten wissenschaftlichen Methoden der Makrogasanalyse (100 ccm) heranreicht, ohne die Umfänglichkeit der Apparatur, ohne die zur Durchführung der Makrogasanalyse erforderliche Zeitdauer zu benötigen. Weit übertroffen wird die Genauigkeit der sogenannten technischen Gasanalyse.

Es erscheint daher notwendig, dafür Stellung zu nehmen, daß die in anderen Wissensgebieten (Medizin, Biologie) in dieser Richtung gemachten Fortschritte nunmehr auch auf die ihnen bisher verschlossen gewesenen Gebiete technischer Untersuchungsmethodik übertragen werden. Denn je feiner die bei der Untersuchung angewendete Methodik, desto tiefer der Einblick in den Ablauf

eines Vorganges. Gerade bei Gasen, welche uns ohnehin der Mühe sorgfältiger Durchmischung durch die ihnen zukommenden Eigenschaften der Diffusion entheben, ist es möglich, auch aus den Werten, erhalten aus kleinsten Substanzmengen, auf die Zusammensetzung großer Mengen zu schließen.

Über die quantitative, mikroanalytische Bestimmung von geringsten Mengen Äthylalkohol in menschlichen und tierischen Organen und dessen Isolierung daraus in Form von Äthyljodid.

Von **J. B. Niederl.**

Department of Chemistry, Washington Square College, New York University.

(Die Veröffentlichung dieses Vortrages wird später erfolgen.)

Die Isolierung von Äthylalkohol aus menschlichen Organen.

Von **A. Benedetti-Pichler.**

Department of Chemistry, Washington Square College, New York University.

(Die Veröffentlichung dieses Vortrages wird später erfolgen.)

Über die Anwendung photoelektrischer Methoden in der Präzisionskolorimetrie.

Von **Ralph H. Müller.**

Washington Square College, New York University.

Von einer Besprechung des lichtelektrischen Effektes kann wohl abgesehen werden. Das neulich erschienene Buch von GUDDEN „Lichtelektrische Erscheinungen“ stellt die grundlegenden Prin-

zipien äußerst klar und interessant dar. Auf die etwas später veröffentlichte Arbeit von CAMPBELL und RITCHIE „Photoelectric Cells" sei bezüglich Herstellung, Prüfung und Anwendungsmethoden hingewiesen. Übrigens wurde auch anläßlich der Tagung der Physical and Optical Societies in London 1930 die photoelektrische Zelle und ihre Verwendung diskutiert.

Es möge hinreichen, auf die wichtigsten Faktoren, die im Falle der Benutzung der Photozellen zur Kolorimetrie beachtet werden müssen, kurz hinzuweisen.

Sorgfältig präparierte, hochevakuierte Zellen besitzen die folgenden Eigenschaften:

1. Der lichtelektrische Strom ist der Lichtintensität streng proportional.
2. Für verschiedene Wellenlängen ist die Ausbeute nicht gleich; sie hängt überdies von der Natur des Kathodenmaterials ab, auch von dessen Vorbehandlung und von mehreren physikalischen und chemischen Eigenschaften der Kathodenoberfläche.

Abb. 1 stellt für verschiedene Metalle die Empfindlichkeit als Funktion der Wellenlänge dar. Die von L. KOLLER[1]) erfundene

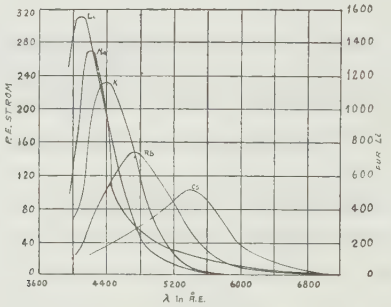


Abb. 1 a.

Caesiumoxyd-Zelle (Abb. 1b) ist bisher die empfindlichste. Sie gibt auch im ultraroten Gebiete eine sehr gute Stromausbeute. Aus den Kurvenbildern ist leicht zu entnehmen, weshalb einzelne Zellen für Messungen in bestimmten Spektralgebieten überhaupt nicht verwendbar sind.

Bei Ausarbeitung einer kolorimetrischen Bestimmungsmethode wird man zweckmäßig wie folgt vorgehen: Zuerst wird das Gebiet

[1]) KOLLER, J. O. S. A. & R. S. I., **19**, 135, 1929.

der maximalen Absorption der zu messenden Lösungen bestimmt. Das geschieht am genauesten durch eine spektrophotometrische Messung der Lichtabsorption. In den meisten Fällen wird natür-

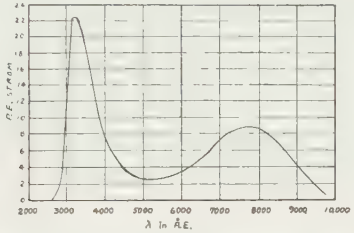


Abb. 1 b.

lich das Absorptionsmaximum im zur Farbe der Lösung komplementären Spektralgebiete liegen. (Bei den seltenen Erden ist diese Betrachtung allerdings wegen der zahlreichen scharfen Absorptionsbanden nicht zutreffend.)

Die Messung ist selbstredend am genauesten, wenn man Licht von der Wellenlänge (Farbe) des Absorptionsmaximums zur photometrischen Messung der Absorptionskraft der Lösungen verwendet. Das homogene Licht wird entweder mit Hilfe eines Monochromators oder bequemer unter Benutzung von geeigneten Lichtfiltern erhalten. Die zur Verwendung gelangende lichtelektrische Zelle wird natürlich so gewählt, daß sie für dasselbe Spektralgebiet möglichst empfindlich ist.

Die bereits erwähnten Caesiumoxyd-Zellen von KOLLER werden für die in Rede stehenden Zwecke bei Messungen in fast allen Spektralgebieten verwendet werden können. Die Messung geschieht ohne weiteres durch Auswertung des photoelektrischen Stromes ohne und mit Einschaltung der zu untersuchenden Lösung in das die Zelle treffende Lichtbündel. Danach kann man entweder empirisch oder durch Anwendung des BEER'schen Gesetzes die betreffende Konzentration ermitteln. Für Systeme, die starke Abweichungen vom BEER'schen Gesetze zeigen, ist man gezwungen, Kompensationsverfahren zu verwenden, die sich prinzipiell in zwei Gruppen trennen lassen:

1. Verfahren mit elektrischer Kompensation des Photostromes und 2. Verfahren mit optischer Kompensation des Photostromes und Einstellung auf identische Stromwerte.

Erstere verlangen strenge Proportionalität zwischen Lichtintensität und Stärke des Photostromes. Falls der letztere verstärkt wird, ist auch Stabilität des ganzen Meßgerätes unentbehrlich.

Die mit optischer Kompensation arbeitenden Verfahren stellen geringe Anforderungen an die Konstanz der Meßanordnung. Wichtig ist jedoch, daß die Intensitätsmessungen mit abwechselnd eingeschalteter Lösung, bezw. Graukeil oder rotierendem Sektor rasch nacheinander geschehen. Weiteres sehe man in den Arbeiten von v. HALBAN und Mitarbeitern[2]) nach.

Die Messung der Photoströme.

Die Messung der Photoströme kann bekanntlich direkt mit Hilfe von Elektrometern, Galvanometern oder Elektroskopen erfolgen. Doch müssen in Verbindung mit kolorimetrischen Messungen die empfindlichsten Typen dieser Instrumente zur Verwendung kommen, soll die Genauigkeit gegenüber jener bei direkter visueller Beobachtung gesteigert werden. Der Gebrauch verhältnismäßig robuster, tragbarer Anzeigeinstrumente wird erst durch vorhergehende Verstärkung der Photoströme möglich.

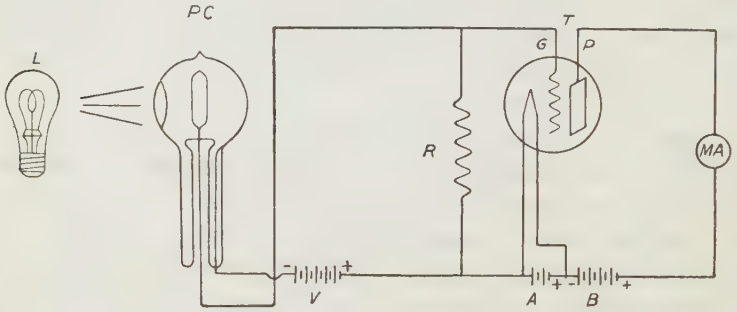


Abb. 2 a.

Hierzu hat man schon seit Jahren Elektronenröhren verwendet. Eine gut bekannte Schaltung ist in Abb. 2a wiedergegeben. Der Photostrom fließt durch den Widerstand R und erzeugt dabei eine

[2]) v. HALBAN und GEIGEL, Ztschr. physikal. Chem., **96**, 214, 1920.
v. HALBAN und SIEDENTOPF, Ztschr. physikal. Chem., **100**, 208, 1922.
v. HALBAN und EBERT, Ztschr. physikal. Chem., **112**, 331, 1924; Ztschr. Physik, **14**, 182, 1923.

Spannung, die auf das Gitter übertragen wird und dadurch den Anodenstrom im Kreise P, B, F, in dem sich das Milliamperemeter befindet, steuert.

Der Verstärkungsgrad hängt von der Steilheit der Charakteristik der Elektronenröhre ab. Der Anodenstrom ist — vorausgesetzt, daß die Photozelle selbst diese Bedingung erfüllt — innerhalb gewisser Werte für die Gitterspannung der Lichtintensität streng proportional. (Selbstredend kann auch der Anodenstrom so kompensiert werden, daß nur Beleuchtungs u n t e r s c h i e d e zur Anzeige kommen.)

Eine derartige Apparatur erlaubt bei aufmerksamer Behandlung die Ausführung sehr genauer Messungen. Abb. 2 b zeigt in sche-

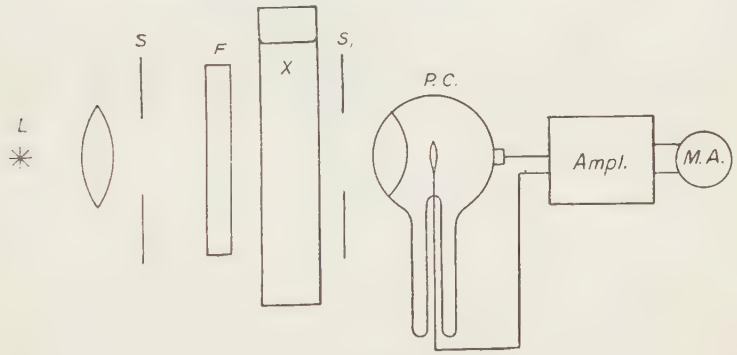


Abb. 2 b.

matischer Weise die von meinen Schülern H. M. Partridge und Williams für kolorimetrische Messungen wie auch für Titrationen mit photoelektrischer Endpunktbestimmung benutzte Meßanordnung. Das von einer Glühbirne L ausgesendete Licht passiert der Reihe nach eine Linse, einen Spalt S, das Farbfilter F, die Zelle mit der zu untersuchenden Lösung X und einen zweiten Spalt S_1, um dann die photoelektrische Zelle zu treffen. Der Photostrom wird nach Verstärkung (Ampl.) mit Hilfe eines Milliamperemeters (MA) gemessen. Abb. 3 gibt die von Partridge erhaltenen Eichkurven für die Wasserstoffionenkonzentrations-Bestimmung mit Hilfe der Farbstoffe m-Kresolrot, Bromphenolblau, Bromkresolgrün, Bromkresolrot, Bromthymolblau, Phenolrot und Thymolblau wieder, während Abb. 4 eine Eichkurve für die Bestimmung der

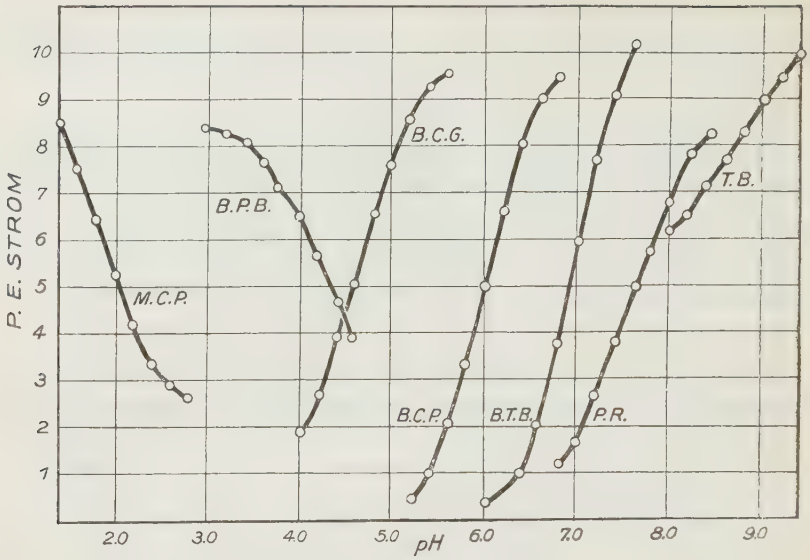


Abb. 3.

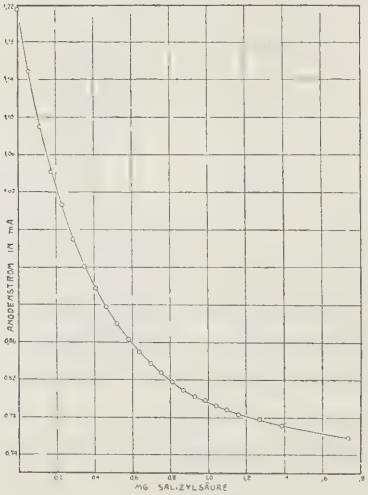


Abb. 4.

Salizylsäure durch photometrische Messung der durch Ferrichloridzusatz hervorgerufenen Violettfärbung zeigt. Wie aus dem Diagramm hervorgeht, handelt es sich im letzteren Falle um eine

ausgesprochene Mikromethode. Titrationen sind auch rein automatisch ausgeführt worden, indem man den verstärkten Photostrom ein Relais betätigen ließ, das seinerseits das Schließen des Bürettenhahnes bewirkte. Einzelheiten mögen aus der Literatur entnommen werden [3, 4, 5, 6]).

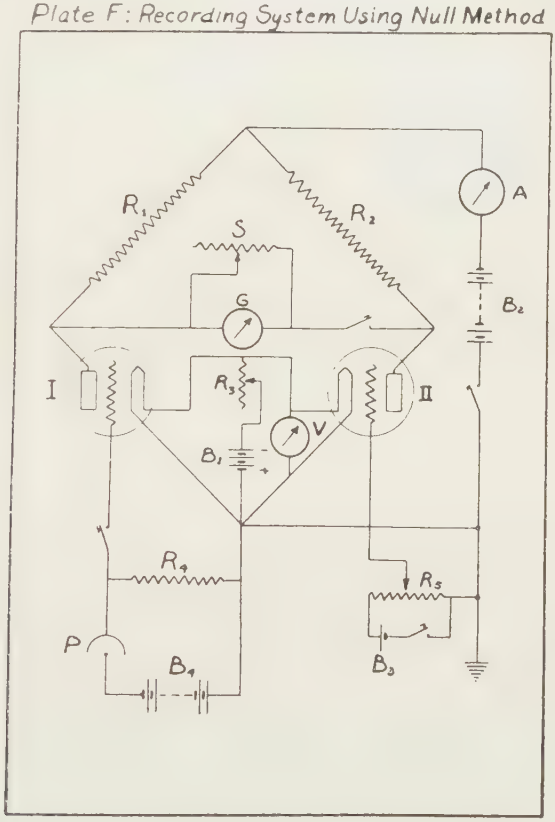


Abb. 5.

Verschiedene Modifikationen einer Brückenschaltung (Abb. 5), bei der der von der Photozelle gelieferte Strom nach Verstärkung in einer WHEATSTONE'schen Brücke mit dem von einem zweiten

[3]) MÜLLER and PARTRIDGE, J. Ind. & Eng. Chem., **20**, 423, 1928.
[4]) MÜLLER and PARTRIDGE, J. Ind. & Eng. Chem. Anal. Ed., **3**, 169, 1931.
[5]) PARTRIDGE, J. Ind. & Eng. Chem. Anal. Ed., **2**, 207, 1930.
[6]) WILLIAMS, MÜLLER und NIEDERL, Mikrochemie, **IX**, 268, 1931.

Elektronenrohr gelieferten Strom kompensiert wird, wurden von Wynn-Williams[7]), Eglin[8]), Nottingham[9]) und Dubridge[10]) beschrieben. Diese Schaltungen bewirken zwar eine Einbuße an Empfindlichkeit, haben aber den Vorteil einer sicheren und leicht reproduzierbaren Einstellung.

Abb. 6 zeigt eine Anordnung ohne Verstärkung, in der als Meß-

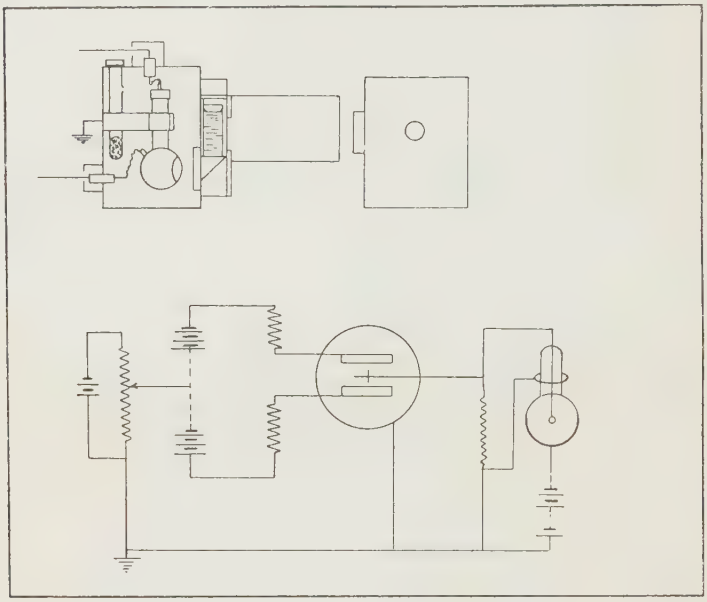


Abb. 6.

instrument ein Lindemann-Elektrometer benützt wird. Auf der rechten Seite der Skizze ist das Beleuchtungsschema dargestellt. Abb. 7 gibt die Schaltung für dieselbe Meßmethode unter Hinzunahme der Verstärkung. Hier wird das die Zelle treffende Lichtbündel durch einen schnell rotierenden Sektor S unterbrochen. Der pulsierende Strom wird nach vielfacher Verstärkung durch ein Thermokreuz geführt. Die dort erzeugte kleine Spannung wird mit einem geeigneten Millivoltmeter G gemessen. Dieses Verfahren

[7]) Wynn-Williams, Proc. Camb. Phil. Soc., **23**, 810, 1927.
[8]) Eglin, J. O. S. A., **18**, 393, 1929.
[9]) Nottingham, J. Franklin Inst., **209**, 287, 1930.
[10]) Dubridge, Physikal. Rev., **37**, 11, 392, 1931.

erfordert optische Kompensation wegen der unvermeidlichen Schwankungen im Meßkreise. Wenn diese Bedingung erfüllt ist, dann kann man aber auch für den Gesichtssinn kaum wahrnehmbare Lichtmengen messen, für die das Auge selbst eine grobe Schätzung der Intensität nicht leisten könnte.

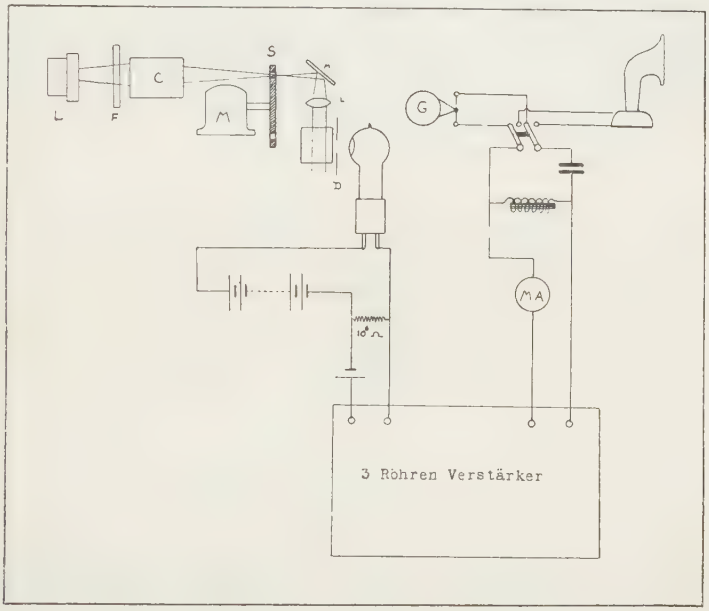


Abb. 7.

Weiters sei hier auf einige Neuerungen in der Technik der Elektronenröhren hingewiesen, die für das besprochene Anwendungsgebiet von Wichtigkeit scheinen. Wie schon lange bekannt, sind die gewöhnlichen Elektronenröhren für sehr genaue Messungen nicht vollkommen geeignet. Hauptsächlich ist die Isolation der verschiedenen Teile der Verstärkerröhren mangelhaft und auch die Wirkung der Stoßionisation auf zurückgebliebene Gasreste ist unerwünscht. Das neulich von der General Electric Co. ausgearbeitete „Low Grid Current Pliotron, FP-54" erfüllt die strengsten Anforderungen. Dieser Verstärker besitzt die folgenden Vorzüge:

1. Verwendung von kleinen Gitter- und Anodenspannungen, um Ionisation zu vermeiden;

2. Vorzügliche Isolation, meist durch Anwendung von Quarz erzielt;
3. Konstruktion, welche die Emission von Lichtelektronen und Sekundärelektronen verhindert.

Eine ausführliche Beschreibung wurde von METCALF und THOMSON[11]) gegeben. DUBRIDGE[10]) ist es gelungen, damit Ströme von 10^{-16} und schließlich 5×10^{-18} Ampere zu messen. Letzterer Wert entspricht einem Strom von 30 Elektronen pro Sekunde und ist allerdings 10^9mal kleiner als die kleinste für kolorimetrische

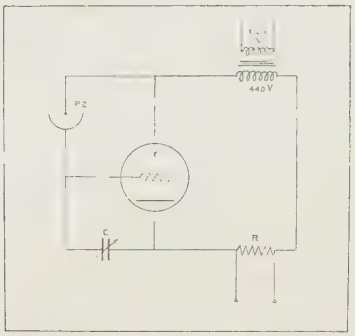


Abb. 8.

Zwecke in Betracht kommende Stromstärke. Jedenfalls zeigen aber diese Angaben, wie weit die Meßtechnik bereits entwickelt ist.

Abb. 8 führt eine Meßanordnung unter Verwendung der etwas älteren „KNOWLES-Grid-Glow-Tube“[12]) schematisch vor. Das genannte Rohr stellt ein Glimmrelais mit Neonfüllung dar und besitzt ein Gitter. Wenn das Gitter sich auflader, so verhindert es die Entladung. Sowie die Gitterladung (durch einen hohen Widerstand, Kondensator oder Photozelle) abfließt, findet Entladung statt. RENTSCHLER[13]) hat dieses Relais in einer ähnlichen Schaltung für die Messung ultravioletter Strahlung benutzt. Ob das Grid-Glow-Tube auch für die Kolorimetrie geeignet ist, muß man abwarten; Versuche sind in unserem Laboratorium im Gange.

Eine weitere Erfindung der General Electric Co. ist das

[11]) METCALF und THOMPSON, Physikal. Rev., **36**, 1489, 1930.
[12]) KNOWLES, Electric Journ., **26**, 176, 1928.
[13]) RENTSCHLER, A. I. E. E.-Tagung, Jänner 1930.

sogenannte Thyratron. Es verwendet eine gittergesteuerte (Bogen-) Entladung in Quecksilberdampf. Abb. 9 zeigt es in einer von HULL[14]) beschriebenen Schaltung. Vollständige Kontrolle wird durch Phasenverschiebung der Gitter- und der Anodenspannung erzielt, da man bekanntlich eine Entladung durch ein Gitter wohl einleiten, aber nicht mehr auslöschen kann, ohne die Anodenspannung herabzusetzen. Die Anodenströme können die enorme Stärke von mehr als 100 Ampere erreichen. Die Anwendung ist bisher hauptsächlich auf rein technische Probleme beschränkt,

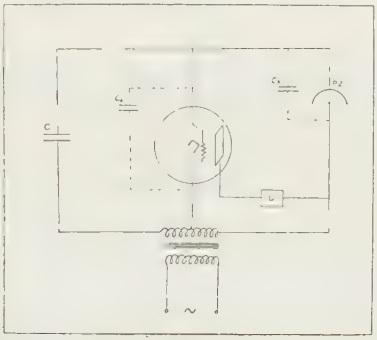


Abb. 9.

doch steht der Verwendung in der Präzisionsphotometrie prinzipiell nichts im Wege.

Schließend sei noch darauf hingewiesen, daß man bereits imstande ist, Farben von Flüssigkeiten oder festen Körpern rein automatisch auf spektrophotometrischem Wege auszumessen. Nach A. C. HARDY[15]) ist die Methode sogar völlig zuverlässig, da durch die zirka 60mal in der Sekunde stattfindende optische Kompensierung alle durch die Photozellen und die Verstärkerröhren hervorgerufenen Unsicherheiten eliminiert werden.

Der Chemiker wird wohl vielleicht nicht augenblicklich überzeugt sein, daß die Kolorimetrie durch die Benutzung von lichtelektrischen Zellen und Verstärkerkreisen gewinnt. Man möge aber bedenken, daß wir täglich Instrumente, wie Polarimeter, Refraktometer und andere, benützen, die doch eigentlich auch recht kom-

[14]) HULL, General Electric Rev., **32**, Nr. 7, 18, 1929.
[15]) HARDY, J. O. S. A. & R. S. I., **18**, 96, 1929.

pliziert sind. So ist zu erwarten, daß sich die photoelektrische Zelle auch früher oder später einen festen Platz im chemischen Laboratorium erobern wird. Mit ihrer Hilfe wird es ein leichtes sein, den kolorimetrischen Bestimmungsmethoden eine derartige Genauigkeit und Verläßlichkeit zu verleihen, daß sie den klassischen Methoden der Mikroanalyse in keiner Weise mehr nachstehen werden.

Abb. 2a, 2b und 9 sind aus dem Buch von ZWORYKIN und WILSON „Photocells and their Applications" entnommen.

Katalyse und Mikrochemie.

Von **F. Feigl.**

II. Chemisches Universitätsinstitut Wien.

Für die Entwicklung der qualitativen Mikroanalyse und insbesondere für die sogenannte „Spurensuche" ist die Erkenntnis von Bedeutung, daß nicht etwa eine bestimmte Arbeitstechnik für die mikroanalytische Auswertung einer Reaktion wesentlich ist, sondern daß es darauf ankommt, ganz allgemein solche Nachweismöglichkeiten zu verwerten und um ihre Ausfindung bemüht zu sein, die eine größtmögliche Empfindlichkeit bei tunlichster Unbeirrbarkeit durch anwesende Begleitstoffe verbürgen[1]). Wenn wir nun diese Freizügigkeit in der Wahl mikrochemischer Erkennungsmethoden sinngemäß zu verwenden trachten, dann wird unsere Aufmerksamkeit unmittelbar auf die Katalysenreaktionen gelenkt. Liegt es doch im Wesen der katalytischen Wirksamkeit, daß sie schon von kleinen Stoffmengen ausgeht, demnach auch in großen Verdünnungen zur Geltung kommen kann und daß sie vielfach einsinnig ist. Demnach werden durch katalytische Effekte gerade jene beiden Momente betroffen, welche für die Mikrochemie von besonderer Wichtigkeit sind: Reaktionsempfindlichkeit und Spezifität. Ein Erscheinungsgebiet wie die Katalyse, das nahezu 100 Jahre bekannt und in der reinen und angewandten Chemie von so großer Bedeutung ist, hat auch in der chemischen

[1]) Vergl. F. FEIGL, Mikrochemie, **I**, 8, 1923.

Analyse Fuß gefaßt. Im Methodenschatz der analytischen Chemie finden sich deshalb zahlreiche Katalysenreaktionen, die teils bewußt aufgenommen, teils bei einer nachträglichen kinetischen Verfolgung des Verlaufes bestimmter Reaktionen erkannt worden sind. Es sei hier lediglich auf die DENNSTEDT'sche Verbrennung, auf Katalysenreaktionen in der Gasanalyse, bei dem KJELDAHL-Verfahren sowie auf die klassischen Arbeiten von TER MEULEN verwiesen, um die diesbezüglichen bekanntesten Methoden zu nennen. Abgesehen von wenigen, auch für Mikromethoden adaptierbaren Fällen handelt es sich aber durchweg um Bestimmungsmethoden der Makroanalyse. In der qualitativen Mikroanalyse scheint, soweit die Literatur darüber Auskunft gibt, erst in jüngerer Zeit die praktische Bedeutung von Katalysenreaktionen gebührend gewürdigt zu werden, was offenbar darauf zurückzuführen ist, daß lange auf die ausgezeichneten, aber nicht immer völlig zufriedenstellenden klassischen Methoden der qualitativen Mikroanalyse zu einseitig Bedacht genommen worden ist.

Auf die prinzipielle Möglichkeit einer mikrochemischen Auswertung von Katalysenreaktionen verweisen bereits mehrfache, schon längere Zeit zurückreichende Literaturangaben; dieselben geben durchweg Bescheid über die Geringfügigkeit jener Stoffmengen, welche sich teils durch direkt von ihnen ausgehende katalytische Effekte, teils durch eine ihnen aufgezwungene (induzierte) Reaktion kenntlich machen lassen. So hat F. SCHÖNBEIN[2]) schon 1860 gefunden, daß die in verdünnter, neutraler Lösung nur äußerst langsam verlaufende Reaktion zwischen Wasserstoffsuperoxyd und Jodkalium durch Zusatz von Eisensalzen momentan eine Jodabscheidung liefert, wodurch die Möglichkeit entsteht, kleine H_2O_2-Mengen zu erkennen. J. TRAUBE[3]) hat den der SCHÖNBEIN-schen Reaktion anhaftenden Mangel, nur in neutraler Lösung zu verlaufen, durch Zusatz eines Gemisches von Eisen- und Kupfersalzen behoben, das auch in saurer Lösung wirkt und als Mischkatalysator darum bemerkenswert ist, weil Cu-Ion für sich allein die H_2O_2-J_2-Reaktion nicht beeinflußt. Später hat J. BRODE[4]) die Wirksamkeit fast aller Metallsalze auf die in Frage stehende Re-

[2]) Journ. prakt. Chem., **79**, 65, 1860.

[3]) Ber., **17**, 1062, 1884.

[4]) Ztschr. physikal. Chem., **37**, 257, 1901.

aktion untersucht und feststellen können, daß die SCHÖNBEIN'sche Reaktion noch in einer 8000stel normalen H_2O_2-Lösung bei Gegenwart von 1 Mol $FeSO_4$ auf 100.000 l Wasser verläuft und daß Molybdänsäure und Wolframsäure in saurer Lösung auf die in Frage stehende Reaktion noch in einer Verdünnung von $2{,}10^{-8}$, bezw. $4{,}10^{-7}$ wirken. Wenn wir noch die Tatsache erwähnen, daß nach G. BREDIG[5]) die Zersetzung von H_2O_2 durch Platin noch in einer kolloidalen Platinlösung, die $7 \cdot 10^{-7}$ Mol Pt enthält, vor sich geht, handelt es sich demnach durchweg um die Erkennung von Stoffmengen, die nach ihrer Größenordnung unzweifelhaft in das Gebiet der Mikrochemie fallen. Ganz das gleiche gilt auch für die Befunde von S. L. BIGELOW[6]), welcher feststellte, daß 0,0014 mg Mannit in 1 ccm die Autoxydation der 800fachen Na_2SO_3-Menge zu verhindern vermögen, eine Tatsache, die für die Stabilisierung solcher Lösungen von Belang ist. Nach A. TITOFF[7]) unterliegt es wohl keinem Zweifel, daß die Wirksamkeit von negativen Katalysatoren bei der Autoxydation des Natriumsulfits auf die Vergiftung eines positiven Katalysators, in diesem Falle vornehmlich des Kupfers, zurückzuführen ist; der Befund[8]), daß selbst ein Milliardstel Grammolekül $CuSO_4$ im Liter auf die Autoxydation von Na_2SO_3 noch einen merklichen Einfluß nimmt, stellt einen bisher noch nicht erreichten Rekord auf dem Gebiete der Katalyse dar und zeigt am sinnfälligsten die Empfindlichkeit der Katalysenreaktion. Das Cu-Ion ist für viele Oxydationsvorgänge ein positiver Katalysator und wirkt dann stets in großer Verdünnung. Nach E. ABEL[9]) läßt sich die katalytische Wirkung des Cu-Ions noch in einer Verdünnung 0,00004% an der Beschleunigung erkennen, welche die Reaktion zwischen H_2O_2 und $Na_2S_2O_3$ in essigsaurer Lösung bei Gegenwart dieses Metalles erfährt; die bisher besprochenen Beispiele verweisen darauf, wie geringe Stoffmengen durch katalytische Effekte noch reaktionskinetisch erfaßbar sind. Für praktische Zwecke wird man wohl raschere Methoden zu gebrauchen wünschen, als es

[5]) G. BREDIG und R. MÜLLER VON BERNEGG, Zschr. physikal. Chem., **21**, 258, 1899.

[6]) Ztschr. physikal. Chem., **26**, 493, 1898.

[7]) Ztschr. physikal. Chem., **45**, 641, 1903.

[8]) TITOFF, l. c.

[9]) Ztschr. Elektrochem., **19**, 477, 1913.

Geschwindigkeitsmessungen sind, selbst unter der Gefahr, weniger günstige Erfassungsgrenzen zu erhalten. Soweit die bisherigen Erfahrungen reichen, sind auch die Stoffmengen, welche sich durch relativ einfache Katalysenreaktionen erkennen lassen, durchaus von jener Größenordnung, die nach den klassischen Methoden der Mikrochemie, beispielsweise durch Kristallfällungen, nachweisbar sind; vielfach unterbieten sie diese aber noch um ein beträchtliches, wie eine Reihe von Katalysenreaktionen zeigt, die in den letzten Jahren analytisch verwertet worden sind.

So gestattet die schon lange bekannte Verdichtung von Gasen (z. B. H_2) an der Oberfläche von fein verteiltem Platin, Palladium und anderen Platinmetallen, in einer Durchführungsart, die F. L. Hahn[10]) beschrieben hat, die Erkennung von 0,04 γ Pt oder 0,01 γ Pd mit Hilfe einer Tropfenreaktion. Demselben Forscher[11]) verdanken wir die mikrochemische Auswertung der von C. A. Oudemanns[12]) erstmalig beobachteten Katalyse der Reaktion zwischen Ferrisalz und Thiosulfat durch Kupfersalze, welche in einer einfachen Durchführungsform noch den Nachweis von 0,02 γ Kupfer im Tropfen gestattet. Eine von K. A. Hofmann[13]) beobachtete Erhöhung der Oxydationswirkung von $KClO_3$ durch Osmiumsalze läßt sich zweckmäßig zu einem empfindlichen Nachweis von 0,005 γ Osmiumtetroxyd in Form von Tüpfelreaktionen verwenden[14]). Neuerdings haben auch N. A. Tananaeff und G. A. Patschenko[15]) die von A. Guyard[16]) erstmalig beobachtete Katalyse der Anilinschwarzbildung durch Vanadinsalze zum Nachweis kleiner Mengen von Vanadin empfohlen. Auf die katalytische Wirkung von Wismutspuren bei der Reduktion von Bleisalzen durch alkalische Stannitlösung haben F. Feigl und P. Krumholz[17]) aufmerksam gemacht: diese Katalyse erfolgt noch bei einer Verdünnung

[10]) Mikrochemie, **VIII**, 77, 1930.

[11]) F. L. Hahn und G. Leimbach, Ber., **55**, 3070, 1922.

[12]) Ztschr. analyt. Chem., **6**, 129, 1867.

[13]) Ber., **45**, 33 9, 1912; vergl. auch K. A. Hofmann, O. Ehrhart und O. Schneider, Ber., **46**, 1657, 1913.

[14]) Vergl. F. Feigl, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, Leipzig 1931, S. 188.

[15]) Chem. Ztrlbl., **1930**, I, 412.

[16]) Chem. Ztrlbl., **1876**, 120.

[17]) Ber., **62**, 1138, 1929.

1 : 90,000.000 und ist, wie H. K. Barenscheen und M. Frey[18]) gezeigt haben, auch für medizinische Zwecke verwertbar, indem sie bei der Luestherapie durch Wismutsalze die Feststellung geringster Wismutmengen in Gewebsteilen und kleinen Mengen Körperflüssigkeit ermöglicht und dadurch in kürzester Zeit Aufgaben lösen läßt, zu denen vordem große Materialmengen und längeres Arbeiten erforderlich waren.

Wir wissen heute bereits, daß wir nicht nur Metalle (Kationen), sondern auch nichtmetallische Gruppen (Anionen) durch Katalysenreaktionen mikrochemisch nachweisen können. G. Denigès[19]) verdanken wir einen empfindlichen Nachweis von CN′, der auf der katalytischen Beschleunigung der Überführung von Alloxan in Oxaluramid und Dialursäure beruht, welch letztere durch gutes Kristallisationsvermögen leicht erkennbar ist. Desgleichen ist auch der bekannte Nachweis von Blausäure durch die empfindliche Kupferazetat-Benzidin-Reaktion[20]) katalytischer Natur (Erf.-Gr. 0,25 γ CN). Soferne wir eine Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit von Verbindungen durch Komplexbindung zu den Katalysen rechnen, wären hier auch die empfindlichen Nachweise von Kieselsäure[21]), Phosphorsäure[22]) und Fluor[23]) anzuführen, welche in Form von Tüpfelreaktionen den Nachweis von 0,1 γ SiO_2, 0,05 γ P_2O_5 oder 1 γ F gestatten. Eine Reihe von mikrochemischen Nachweisen für Verbindungen des zweiwertigen Schwefels beruhen auf der von F. Raschig[24]) erstmalig beobachteten Katalysen der Jod-Azid-Reaktion durch Thiosulfat. Diese Katalysenreaktion hat sich für den überaus empfindlichen und zugleich eindeutigen Nachweis von löslichen und unlöslichen Sulfiden (Erf.-Gr. 0,02 γ Na_2S[25]) sowie von Rhodaniden (Erf.-Grenze 1,5 γ KCNS[26]) auswerten las-

[18]) Mikrochemie, Pregl-Festschrift, 1929, 1.

[19]) Mikrochemie, **IV**, 149, 1926.

[20]) Vergl. A. Sievert und A. Hermsdorf, Ztschr. angew. Chem., **34**, 3, 1931.

[21]) F. Feigl und P. Krumholz, Mikrochemie, Pregl-Festschrift, 1929, 82.

[22]) F. Feigl, Ztschr. analyt. Chem., **61**, 454, 1922; **74**, 386, 1928; **77**, 299, 1929.

[23]) F. Feigl und P. Krumholz, Mikrochemie, Pregl-Festschrift, 1929, 82.

[24]) Ber., **48**, 2088, 1915.

[25]) F. Feigl, Ztschr. analyt. Chem., **74**, 369, 1928; vergl. auch Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, Leipzig 1931, 284.

[26]) F. Feigl, Mikrochemie, **VII**, 12, 1929.

sen. Es verdient hervorgehoben zu werden, daß sich durch eine einfache Manipulation, nämlich durch Ausschütteln von Wasser mit einem Quecksilbertropfen und Anstellung der Azidreaktion mit demselben noch Sulfidspuren (0,05 γ H_2S in 10 ccm im Wasser erkennen lassen[27]), die sich einer Auffindung mit der überaus empfindlichen Methylenblau-Reaktion entziehen. Das gleiche Verfahren, welches die leichte Quecksilbersulfid-Bildung des metallischen Quecksilbers benützt, hat sich auch für den Nachweis von elementarem Schwefel (0.01 γ S in 10 ccm) Schwefelkohlenstoff bewährt[28]).

Im nachfolgenden seien einige Modellversuche beschrieben, welche analytisch faßbare katalytische Effekte betreffen[29]).

1. Nachweis von Nitraten.

Die Einwirkung des durch Zink und Schwefelsäure entbundenen Wasserstoffs auf Kaliumpermanganat verläuft nur langsam, weil die Geschwindigkeit der Vereinigung des atomarem zu molekularem Wasserstoff größer ist als die der Reduktion des Permanganats. Setzt man aber kleine Mengen von Nitraten zu, dann wird durch den atomaren Wasserstoff Nitrat zu Nitrit reduziert, welches von dem gleichzeitig anwesenden Permanganat unter Aufbrauch desselben wieder zu Nitrat oxydiert und der Einwirkung des naszierenden Wasserstoffs neuerlich ausgesetzt wird.

Auf diese Weise lassen sich unter Anstellung eines Parallelversuches Nitrate nachweisen; die Versuchsbedingungen (verdünnte $KMnO_4$-Lösung zur schnellen Erkennung einer Entfärbung) bringen es mit sich, daß die Erkennung von NO_3-Ion nicht sehr empfindlich ist, da sich Verluste durch Entweichen von salpetriger Säure nicht vermeiden lassen. Immerhin kann bei Abwesenheit anderer reduzierender und oxydierender Substanzen Nitrat erkannt werden auch in Gegenwart solcher Verbindungen, bei denen sich die bekannte Bruzin- und Diphenylamin-Reaktion nicht anwenden läßt.

---

[27]) F. Feigl und L. Weidenfeld, Mikrochemie, Emich-Festschrift, 1930, 132.

[28]) F. Feigl und L. Weidenfeld, l. c.

[29]) Die Versuche wurden im Verlaufe von Arbeiten des Vortragenden und seiner Mitarbeiter über die analytische Auswertung von Katalysenreaktionen durchgeführt und sind bisher noch nicht veröffentlicht worden.

2. *Nachweis von Metallpersäuren*[30]).

Bekanntlich hat E. Abel[31]) in einer sehr bedeutungsvollen Untersuchung gezeigt, daß die Einwirkung von H_2O_2 auf $Na_2S_2O_3$, die gemäß

$$H_2O_2 + 2\,S_2O_3'' + 2\,H^{\cdot} \longrightarrow S_4O_6'' + 2\,H_2O \quad . \quad . \quad . \quad . \quad 1.)$$

verläuft, einen ganz anderen Weg einschlägt, wenn Molybdate zugegen sind. Die Umsetzung verläuft dann gemäß

$$4\,H_2O_2 + S_2O_3'' \longrightarrow 2\,SO_4'' + 2\,H^{\cdot} + 3\,H_2O \quad . \quad . \quad . \quad . \quad 2.)$$

führt also zu ganz anderen Reaktionsprodukten als die nicht katalysierte Reaktion. E. Abel hat auch die Erkennung der gemäß 2.) erscheinenden Reaktionsprodukte einem Vorlesungsversuch über Katalysenreaktionen zugrunde gelegt[32]) und darauf hingewiesen, daß noch 10^{-8}% Molybdän sich durch die von ihm erzeugte Reaktionsablenkung kenntlich machen.

Die Abel'sche Reaktion läßt sich demnach zum Nachweis von Molybdän verwerten. Nach unseren Versuchen wirken in gleicher Weise wie Molybdän auch noch Wolfram, Titan, Vanadin, Zirkon und Thorium, demnach durchwegs Metalle, welche zur Bildung von Perverbindungen befähigt sind. Die Abel'sche Katalyse ist demnach ein Reagens auf die saure O-OH-Gruppe, was sich auch dadurch bestätigen ließ, daß die leicht zugängliche Peressigsäure und Perphosphorsäure die gleiche Reaktionsablenkung mit Thiosulfat liefern wie die obgenannten Metallpersäuren. Allen Persäuren ist nach unseren Befunden noch eine andere katalytische Wirkung eigen, nämlich die Fähigkeit, die für sich allein in schwach essigsaurer Lösung nur langsam verlaufende Bromabscheidung aus Kaliumbromid und Wasserstoffsuperoxyd zu beschleunigen.

Die Empfindlichkeit des Nachweises der genannten Metalle durch die Wirkung ihrer Perverbindungen auf Thiosulfat (Bildung von $BaSO_4$ unter geeigneten Bedingungen) ist wesentlich größer als alle anderen üblichen Nachweisreaktionen.

Ausführung:

Je 2 ccm der nachstehenden Lösungen (a bis d) werden miteinander vereinigt:

---

[30]) Nach Versuchen von F. Deutsch, E. Fränkel und F. Heysnar.

[31]) Monatsh. Chem., **34**, 821, 1913.

[32]) Ztschr. Elektrochem., **19**, 480, 1913.

a) 1 g $Na_2S_2O_3 . 5 H_2O$ in 100 ccm H_2O;
b) 25 g $BaCl_2$ in 100 ccm H_2O;
c) 0,1 n-Essigsäure;
d) 0,7proz. H_2O_2.

Nach Herstellung der Reagenzlösung wird diese in zwei Teile geteilt, zu je einem Teil 4 ccm der tunlichst neutralen Probelösung, bezw. 4 ccm Wasser hinzugefügt und unter zeitweiligem Umschütteln stehen gelassen. Die Blindprobe trübt sich etwa nach 15 bis 20 Minuten infolge Schwefelausscheidung, während die Normalprobe bei Gegenwart von Mo, W, Ti usw. je nach deren Menge sich schon nach kürzerer Zeit infolge $BaSO_4$-Ausscheidung sichtbar trübt. Die nachstehende Tabelle zeigt die Empfindlichkeiten der Katalysennachweise:

Metall	Zeit bis zum Auftreten einer deutl. $BaSO_4$-Ausscheidung (Trübung)	Erfassungsgrenze in 4 ccm Lösung	Grenzkonzentration
Mo	5 bis 8′	1 γ	1 : 4,000.000
W	5 bis 8′	2 γ	1 : 2,000.000
Vd	5 bis 8′	1 γ	1 : 4,000.000
Ti	5 bis 8′	0,5 γ	1 : 8,000.000
Zr	5 bis 8′	1 γ	1 : 4,000.000
Th	5 bis 8′	0,5 γ	1 : 8,000.000

3. Analytische Auswertung einer Eisenkatalyse.

Bekanntlich entsteht Tetrathionat aus Thiosulfat und Wasserstoffsuperoxyd und überschüssiges Wasserstoffsuperoxyd ist auf Thiosulfat in essigsaurer Lösung ohne Einwirkung. Die vielfach festgestellte katalytische Wirkung von Eisensalzen bei Oxydationsprozessen macht sich nun in interessanter Weise auch bei der Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd auf Polythionate (Tri-, Tetra- und Pentathionat) geltend; es entsteht nämlich bei Anwesenheit von Fe^{II}- oder Fe^{III}-Salzen Sulfat und an einer bei Anwesenheit von $BaCl_2$ entstehenden Trübung durch Bariumsulfat

lassen sich noch kleine Eisenmengen erkennen. Für den Nachweis von Eisen dürfte im Hinblick auf die zahlreichen ausgezeichneten Methoden zur Erkennung dieses Metalles die genannte Katalysenreaktion (die etwa ebenso empfindlich ist wie der Rhodannachweis) keine Bedeutung besitzen, hingegen könnte sie vielleicht für die Analyse von Polythionaten brauchbar sein. Die Oxydation von Polythionat durch Wasserstoffsuperoxyd bei Gegenwart von Eisensalzen könnte vielleicht einiges Interesse als Modellversuch für die Einwirkung eines Eisenmoloxydes haben. Bekanntlich wird angenommen, daß die Primäroxyde (Moloxyde) des Eisens als Peroxyde aufzufassen sind. Da nun Wasserstoffsuperoxyd als echtes Peroxyd unwirksam ist, so ist die Annahme naheliegend, daß in den Moloxyden der angelagerte Sauerstoff aktiviert wird.

4. Nachweis von Chrom[33]).

Nach F. Ibbotson und R. Howden[34]) wird die Oxydation von Chrom(3)salzen durch Kaliumpersulfat in saurer Lösung durch lösliche Silbersalze dermaßen beschleunigt, daß schon bei Zimmertemperatur in kürzester Zeit die Oxydation beendet ist. Verbindet man diese katalytische Oxydation mit der von P. Cazeneuve[35]) beschriebenen Farbreaktionen (Violettfärbung mit Diphenylcarbazid in der Eprouvette), so kann man auf diese einfache Weise Chrom in saurer Lösung selbst in Spuren erkennen, was gegenüber der sonst üblichen alkalischen Oxydation wesentliche Vorteile bietet.

Ausführung:

Die auf Chrom zu prüfende Lösung, die keine oder nur wenig Halogenide enthalten darf, wird mit einer gesättigten $K_2S_2O_8$-Lösung und mit ein bis drei Tropfen einer 2%igen $AgNO_3$-Lösung versetzt und zwei bis drei Minuten stehengelassen. Hierauf werden einige Tropfen einer alkoholischen Diphenylcarbazidlösung zugefügt, wonach je nach der Menge des enthaltenen Chroms, eine Rotviolett- bis Rosafärbung auftritt, die beim Stehen mißfarben wird.

[33]) Nach Versuchen von L. Weidenfeld.

[34]) Chem. News, **90**, 320, 1904; Chem. Ztrbl., 1905, I, 562.

[35]) C. r., **131**, 346, 1900; Chem. Ztrlbl., 1901, II, 688.

Auf diese Weise sind in 1 ccm noch 0,15 γ Chrom (1 : 6,700.000) nachweisbar. In Form einer Tropfenreaktion auf einer Tüpfelplatte lassen sich noch 0,08 γ Chrom (1 : 625.000) erkennen.

5. Nachweis von Silber[36]).

$HgCl_2$ wird durch Phenylhydrazin in eisessigsaurer Lösung zu Kalomel und in weiterer Folge langsam zu elementarem Quecksilber reduziert. Auf Zusatz von Spuren Silbernitrat erfolgt jedoch momentan eine Schwarzfärbung der Quecksilbersalzlösung durch Abscheidung von feinverteiltem Quecksilber. Offenbar wirken in diesem Falle kleine Mengen von elementarem Silber als Keime für die Abscheidung von Quecksilber. Es läge dann ein analoger Fall vor, wie bei der Wirksamkeit von Wismutkeimen bei dem schon früher erwähnten Wismutnachweis. Diese Tatsache läßt sich zum Nachweis von Silberspuren benützen, wenn man als Reagens eine Aufschlämmung von Kalomel in Phenylhydrazin-Eisessig verwendet.

Ausführung:

Frisch gefälltes, gut gewaschenes Kalomel wird in wenig Wasser aufgeschlämmt und mit einer Lösung von einem Teil Phenylhydrazin und zwei Teilen Eisessig versetzt. Teilt man nun diese Aufschlämmung in zwei Teile und bringt zu dem einen Teil 1 ccm einer sehr verdünnten $AgNO_3$-Lösung, so entsteht, je nach der Menge des Silbers, sofort oder nach wenigen Minuten eine schwarzgraue Abscheidung von Quecksilber, während in der Parallelprobe eine Reduktion erst nach weit längerem Stehen wahrnehmbar ist.

Bei einer Silbernitratlösung, welche 1 : 62,000.000 verdünnt ist, entsteht die für den positiven Ausfall des Silbernachweises charakteristische Graufärbung unmittelbar nach Zusatz der Silberlösung zum Reagens; bei einer Verdünnung 1 : 200,000.000 war ein deutlicher Farbenunterschied von Probe und Vergleichslösung nach fünf bis sieben Minuten deutlich sichtbar. Die jeweiligen Erfassungsgrenzen betragen demnach 0,016 γ, bezw. 0,015 γ Ag pro Kubikzentimeter. Der erwähnte Silbernachweis übertrifft daher an Empfindlichkeit alle bisher bekannten.

[36]) Nach Versuchen von E. Fränkel und H. J. Kapulitzas; vergl. auch F. Feigl, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, Leipzig 1931, S. 70.

Anwendung der Mikroanalyse bei Untersuchungen von Edelmetallegierungen.

Von **R. Strebinger**, Wien.

Laboratorium für Mikroanalyse, Technische Hochschule Wien.

Seit einer Reihe von Jahren studiere ich die Möglichkeit einer allgemeinen Einführung der quantitativen Mikromethoden zur Untersuchungen von Legierungen in die technische Praxis. Obwohl mir zahlreiche Fälle der Durchführung von derartigen Mikroanalysen in Industrielaboratorien bekannt sind, handelt es sich doch in fast allen Fällen um Anwendungen, bei denen der Materialmangel die Ursache der Heranziehung von Mikromethoden war. Das hat darin seinen Grund, daß weder besondere Materialersparnis wegen Kostbarkeit des Untersuchungsobjekts, noch besondere Schonung des Gegenstandes bei der Probenahme wegen eines eventuellen Altertums- oder Kunstwertes, bei der Analyse von Stahlsorten, Messing, Bronzen und dergleichen in Frage kommt. Seltene Einzelfälle ausgenommen.

Ich konnte zahlreiche prähistorische Bronzegegenstände, ohne deren Beschädigung durch die Probenahme, qualitativ und quantitativ analysieren, Ni im Nickelstahl, Mn in Eisensorten, SiO_2 in technischem Aluminium bestimmen usw., alles mit einigen Milligramm Einwaage. Liegt bei allen diesen Untersuchungen nicht die zwingende Notwendigkeit des Materialmangels vor, wird die technische Praxis jedoch, vorläufig wenigstens, dazu nicht Mikromethoden neu einführen. Ganz anders liegen die Dinge bei Untersuchungen von Edelmetallegierungen.

Zur Ermittlung des Feingehaltes an Edelmetallen in Legierungen, welche zur Erzeugung von Schmuckgegenständen oder zur Herstellung von Zahnprothesen und dergleichen dienen, wird in der Praxis fast allgemein die sogenannte Strichmethode und zu genaueren Bestimmungen das dokimastische Verfahren angewendet, nur in Ausnahmsfällen wird auf chemisch-analytischem Wege der Gehalt an Edelmetall festgestellt. Die Bestimmung der beilegierten anderen Metalle war bis vor einigen Jahren von ganz

untergeordneter Bedeutung, da ausschließlich Legierungen von ganz bestimmtem einfachen Typus erzeugt wurden, wobei z. B. für Goldlegierungen nur Kupfer und Silber, allein oder gemeinsam, in Betracht kamen. Erst als das Platin immer mehr und mehr für die eingangs erwähnten Zwecke Verwendung fand, ging damit die Erzeugung von platinähnlichen Legierungen Hand in Hand, welche entweder sehr wenig Platin oder gar keines enthielten, doch dafür als edles Metall Gold, dessen Eigenfarbe durch Beilegieren von Nickel, Palladium, Silber, Zink, Mangan und anderen unedlen Metallen zum Verschwinden gebracht wurde. Diese sogenannten „Weißgoldlegierungen" waren sicher auch der Anlaß, daß nunmehr auch Goldlegierungen, bei denen die charakteristische Eigenfarbe des Goldes erhalten bleiben sollte, die, wie erwähnt, bisher nur mit Kupfer-Silber legiert wurden, ebenfalls noch mit anderen Metallen, vorwiegend Zink, erzeugt wurden. Bei der Neufassung des österreichischen Punzierungsgesetzes wurde daher auch die Wahl der jeweiligen Beilegierung freigegeben und nur der Feingehalt der Legierung fest umschrieben.

Durch die Einführung dieser nicht mehr einfach legierten Edelmetalle wurde nun die gebräuchliche Strichprobe wesentlich erschwert. Diese beruht bekanntlich auf dem Vergleich der Einwirkung verschiedener Säuregemische, sogenannter „Prüfsäuren", auf dünne Metallschichten, die auf einem „Probierstein" (schwarzer Kieselschiefer) mit der unbekannten Edelmetallegierung und einer solchen von bekannter Zusammensetzung, der „Probiernadel", durch Abreiben erzeugt wurden. Auf diese Weise konnte man z. B. in Goldlegierungen, solange diese nur Kupfer und Silber enthielten, durch Herstellen einer Reihe von Versuchsnadeln aus dem gleichen Material in wechselnder Menge, dann durch Vergleichen von geätzten Strichen, deren Goldgehalt mit großer Sicherheit ermitteln. Bei Anwesenheit von anderen beilegierten Metallen ergaben sich gewisse Abweichungen, die bei Weißgoldlegierungen und Platinlegierungen die Bestimmung des Feingehaltes durch die Strichprobe wesentlich erschwerten. Um dennoch die für den praktischen Gebrauch fast unentbehrliche Strichprobe beibehalten zu können, ist es oft erwünscht, rasch mit einfachen Mitteln, unter Verwendung kleiner Mengen von Untersuchungssubstanz, da der Gegenstand nicht beschädigt werden darf, eine qualitative Analyse

durchzuführen. Allen diesen Anforderungen entsprechen die mikrochemischen Methoden im vollen Umfange und haben R. Strebinger und H. Holzer[1]) einen Untersuchungsgang ausgearbeitet, der sich sehr gut bewährt.

Durchschnittlich enthalten Silberlegierungen 2 bis 3, Goldlegierungen 3 bis 6 und Platinlegierungen 3 bis 4 beilegierte Metalle. Die zu untersuchende Legierung wird in einem geeigneten Lösungsmittel, abhängig von deren Zusammensetzung, gelöst. Um dem Lösungsmittel zu ermöglichen, genügende Mengen der Metalle zu lösen, war eine feine Verteilung der Edelmetallegierung auf einer größeren Oberfläche unbedingt notwendig. Zu diesem Zwecke streichen wir die zu untersuchende Legierung an einem Objektträger, der in der Mitte eine schüsselartige Vertiefung eingeschliffen besitzt, welche durch ein Sandstrahlgehläse angerauht ist[2]). Diese Technik ermöglicht auch Fassonware (Ringe, Ketten und dergleichen) qualitativ zu untersuchen, ohne die Gegenstände zu beschädigen. Von dem Gedanken ausgehend, daß in unserem speziellen Fall nur die Beilegierung von Interesse ist, trachten wir, wenn möglich, beim Lösen der Edelmetallegierung vom Edelmetall selbst möglichst wenig in Lösung zu bekommen. Für 14karätige Goldlegierungen hat sich diese Methodik sehr gut bewährt, da nach dem Streichen am Objektträger und darauffolgendem Lösen in Salpetersäure (1 Teil Wasser + 5 Teile Salpetersäure, konz.) wohl die Beilegierung in Lösung geht, während das Gold am rauhen Glas fest haften bleibt. Selbstverständlich kann das Lösen auch unter Erwärmen des Objektträgers über dem Mikrobrenner beschleunigt werden. Das zum Auflösen verwendete Säuregemisch wird mit Hilfe einer Kapillarpipette in die Vertiefung eines Objektträgers gebracht. Durch Streichen der Legierung werden am Objektträger zirka 0,5 bis 1 mg Metall aufgetragen, zu dessen Lösung je 2 bis 3 Tropfen der oben erwähnten Säure bei eventuell mehrmaligem Abrauchen notwendig sind. Die wäßrige Lösung wird mit einer Kapillarpipette in eine Mikroeprouvette gebracht und die

---

[1]) R. Strebinger und H. Holzer, Zur Anwendung der Mikroanalyse im Punzierungswesen. Mikrochemie, **VIII**, 264 (1930).

[2]) Diese Objektträger werden von der Firma Paul Haack, Wien, IX., Garelligasse 4, erzeugt.

klare Lösung in üblicher Weise weiterbehandelt. Wir haben in den meisten Fällen zum Nachweis der Metalle die sehr empfindlichen und durchaus charakteristischen Kristallfällungen herangezogen, welche durch ihre eindeutigen Kristallformen ein sicheres Erkennen der einzelnen Ionen gewährleisten. Die Durchführung der Analyse beansprucht je nach Anzahl der vorhandenen Ionen, 15 bis 40 Minuten, wobei Streichen und Lösen mitinbegriffen sind. Bei Verwendung von 0,5 bis 1 mg der Legierung kann man auf diese Weise Metalle bestimmen, welche noch in einer Menge von 0,5% vorhanden sind. Mit Hilfe dieser Methodik, also unter Verwendung des oben beschriebenen Objektträgers, lassen sich natürlich auch unedle Legierungen untersuchen, wie R. STREBINGER[3]) an vielen Beispielen erprobte. Die Durchführung derartiger Untersuchungen ist so einfach, daß diese Methodik seit Jahren im Hörerpraktikum an der Technischen Hochschule in Wien bei mikroanalytischen Kursen von den Anfängern mit bestem Erfolge angewendet wird.

Natürlich lassen sich auf die gleiche Weise leicht und schnell auch Metallüberzüge, wie Verplatinierung, Verkupferung und dergleichen mehr, rasch nachweisen. Dabei möchte ich einen sicheren und eleganten, sehr empfindlichen Nachweis von Platin in Metallen erwähnen, den F. HAHN[4]) kürzlich beschrieben hat. Durch Tränken von Asbestpapier mit einem Tropfen der zu untersuchenden Lösung, Eindunstenlassen und Glühen erhält man fein verteiltes ausgeschiedenes Platinmetall; davon kommen für uns praktisch nur Platin und Palladium in Betracht. Diese zeigen ein deutliches Aufleuchten durch Katalyse beim Einhalten in einen Leuchtgas- oder, noch besser, Wasserstoffgasstrom; wir verwenden dazu zweckmäßig einen Mikrobrenner nach STREBINGER[5]).

Kann man durch die Strichmethode in Goldlegierungen noch den Feingehalt bei ungefährer Kenntnis der Beilegierung mit einiger Sicherheit ermitteln, ist dies bei Platinlegierungen, die palladiumhaltig sind, mit Schwierigkeiten verbunden. Auch bei hochwertigen Goldlegierungen fällt infolge der Unmöglichkeit der Erzielung eines glatten Striches wegen der Weichheit des Materials die Fein-

[3]) Unveröffentlichte Versuche.
[4]) F. HAHN, Mikrochemie, **VIII**, 77 (1930).
[5]) R. STREBINGER, Mikrochemie, **IV**, 14 (1926).

gehaltbestimmung mittels der Strichmethode nicht zufriedenstellend aus, während eine Mikromethode[6]) sehr gute Resultate lieferte.

Nach vielen Versuchen fanden R. Strebinger und H. Holzer in der Abscheidung des Platins als K_2PtCl_6 eine praktisch sehr gut verwendbare mikroanalytische Bestimmungsmethode. Im Zuge dieser Untersuchungen ist es gelungen, eine sehr bedeutende Fehlerquelle bei derartigen Bestimmungen aufzudecken. Da das K_2PtCl_6 im Wasser ziemlich löslich ist, wird sowohl in der Makro- als auch in der Mikroanalyse das Auswaschen, bezw. der Transport in das Filtriergefäß mit Alkohol vorgenommen. Wir konnten nun feststellen, daß schon ein geringer Aldehydgehalt des Alkohols genügt, um wesentlich niedrigere Analysenzahlen hervorzurufen. Es tritt wahrscheinlich eine Reduktion zu Salzen der H_2PtCl_4 ein, die leichter löslich sind und dadurch weggewaschen werden. Wir verwenden bei allen anorganischen Mikrobestimmungen durchweg die Filtriervorrichtungen nach F. Pregl[7]) und konnten im vorliegenden Fall beim Arbeiten mit aldehydfreiem Alkohol nach Glühen des K_2PtCl_6 im Mikro-Neubauertiegel und abermaligem Auswaschen sehr gute Werte erhalten.

Noch deutlicher zeigte sich die reduzierende Wirkung des im Alkohol enthaltenen Aldehyds bei der von uns ausgearbeiteten kolorimetrischen Methode. Wie bekannt, entsteht beim Versetzen einer wäßrigen K_2PtCl_6-Lösung mit KJ eine intensiv rot gefärbte Verbindung K_2PtJ_6; diese versuchten wir kolorimetrisch auszuwerten. Wurde nun die quantitative Abscheidung des K_2PtCl_6 mit einem vom Aldehyd nicht befreiten Alkohol vorgenommen (dieser selbst wurde durch Trocknen vollkommen entfernt), zeigte die wäßrige Lösung nach Zugabe von KJ schon nach kurzer Zeit (20 Minuten) Übergang der Rotfärbung in Braunviolett und bald Ausscheidung von metallischem Platin. Dadurch erklären sich auch die verschiedenen Angaben über kurze Haltbarkeit des K_2PtJ_6. Schaltet man bei der Abscheidung jeden reduzierenden Einfluß aus, dann kann man die wäßrige Lösung des gebildeten

[6]) Veröffentlichung demnächst.

[7]) Siehe G. Klein-R. Strebinger, Fortschritte der Mikrochemie, Verlag Deuticke, Wien, pag. 8.

K_2PtJ_6 sogar bei 60° am Wasserbad erwärmen, ohne daß Zersetzung zu befürchten ist und zeigt nach längerem Stehen, mit einem Standard verglichen, immer die gleiche Farbintensität. Als Standard wurde eine K_2PtCl_6-Lösung von bekanntem Gehalte verwendet, die jeweils vor Gebrauch durch Zugabe von KJ in den Jodkomplex übergeführt wurde. Ältere K_2PtCl_6-Lösungen zeigten dabei eine gewisse Unbeständigkeit, da nach dem Versetzen mit KJ in der Färbung geringfügige Abweichungen auftraten, die dann die Versuchsergebnisse beeinflußten. Auch hierbei spielen Reduktionserscheinungen eine Rolle, da nach Oxydation mit Königswasser und Abdampfen mit HCl wieder die ursprünglichen Werte resultierten. Gearbeitet wurde in einem Mikrokolorimeter nach KLETT (Fassungsraum 3 ccm)[8]).

Besondere Sorgfalt ist der Probenahme zuzuwenden, da einerseits die Platinlegierungen offenbar wegen des hohen Schmelzpunktes des Platins nicht sehr homogen sind, anderseits vorhandene Lotstellen oder vom Lot überlaufene Stellen eine ganz andere Zusammensetzung zeigen, da das sogenannte Platinlot in der Regel gar kein Platin enthält. Um auch hier die Probenahme unter möglichster Schonung des Gegenstandes durchzuführen, entnehmen wir an einem Werkstück durch Abschaben mit einem Stahlschaber 3 bis 5 mg. Fassonware (Ringe, Ketten und dergleichen) reiben wir an einem vorher gewogenen Schälchen, dessen Innenfläche (Boden und der untere Teil der Wandung) angerauht ist und wägen nach erreichter Gewichtskonstanz abermals. Für Gegenstände, die ein Abreiben in der Schale nicht gestatten, verwenden wir angerauhte Glasplättchen in ähnlicher Weise.

Das auf diese Weise vorbereitete Probematerial wird in wenig Königswasser unter Zugabe von einem Tropfen 10%igem Wasserstoffsuperoxyd gelöst, zur Trockne eingedampft und, wie früher erwähnt, entweder gravimetrisch oder im KLETT'schen Mikrokolorimeter bestimmt. Wählt man die gravimetrische Methode, muß natürlich vor der Abscheidung als K_2PtCl_6 eine Filtration zum Zurückhalten von abgeriebenen Glasteilchen eingeschaltet werden.

Die uns zur Untersuchung vorliegenden Platinlegierungen fassen

[8]) R. STREBINGER u. H. HOLZER, Die mikroanalytische Bestimmung des Platins in Legierungen, Mikrochemie, **IX**, 401 (1931).

wir unter dem Namen Schmuckplatine zusammen. Es sind dies Legierungen vom Typus I: Pt-Cu, II: Pt-Pd-Cu, weiters sogenannte Feilungsplatine, bestehend aus Pt-Pd-Au-Cu-Ni-Fe-Zn, werden durch Zusammenschmelzen von Platinlegierungen des Typus I und II mit Weißgoldabfällen hergestellt. Gefordert ist nach den österreichischen gesetzlichen Bestimmungen ein Feingehalt von 950 Pt. Das von großen Legieranstalten gelieferte Material wies innerhalb der üblichen Inhomogenitätsgrenzen fast immer diesen Feingehalt auf, im Gegensatz zu den Feilungsplatinen, die, vom Goldarbeiter selbst hergestellt, in den seltensten Fällen den angeforderten Bedingungen entsprechen. Sogenannte Geräteplatine, hauptsächlich mit Iridium legiert, waren nicht Gegenstand der Untersuchung.

Demnach haben wir neben Pt mit der Anwesenheit von Pd, Au, Ag, Cu, Ni, Zn, Fe zu rechnen, seltener sind Rh, Ru anzutreffen, während wir den geringen Iridiumgehalt (2‰), der in jeder Platinlegierung vorhanden ist, mit dem Platin bestimmen.

Zur Trennung des Platins von den genannten Metallen wird die Fähigkeit der H_2PtCl_6, mit Kaliumchlorid ein unlösliches Salz zu bilden, herangezogen. Cu, Ni, Fe, Zn sind zu dieser Salzbildung nicht befähigt und können deshalb leicht ausgewaschen werden, während die dem Platin ähnlichen Komplexe des Pd, Au, Rh, Ru schon bei Gegenwart geringer Wassermengen löslich und ohne weiteres mit 96%igem Alkohol zu entfernen sind. Allenfalls vorhandenes Ag wird als AgCl-Niederschlag abgeschieden. Andere Trennungsmethoden sind zu umständlich und können kaum auf größere Genauigkeit Anspruch erheben.

Dabei soll erwähnt werden, daß bei Anwesenheit von Palladium unsere Analysenzahlen immer um 20 bis 30‰ niedrigere Werte zeigten als die auf dokimastischem Wege ermittelten, was wir durch die Unmöglichkeit erklären, bei letzterer Methode durch Solvation mit Schwefelsäure das Palladium quantitativ herauszulösen. Eine Annahme, deren Richtigkeit wir auch an einem Beispiel aus der Praxis bestätigen konnten.

Wenn ich durch diese kurzen Ausführungen der technischen Praxis einige Anregungen geben konnte, um die Mikromethoden in ihren Betrieben nutzbringend anzuwenden, erblicke ich darin die schönste Anerkennung meiner Tätigkeit.

Die heutigen Grenzen mikrochemischen Erkennens und Messens.

Von **F. L. Hahn**, Frankfurt a. M.

Röntgenspektroskopie und Emissionsspektralanalyse haben in den letzten Jahren bei der Entdeckung neuer Elemente, wie Hafnium, Rhenium und Masurium, ganz Überragendes geleistet und durch die Arbeiten von GERLACH[1]) und von SCHEIBE und ihren Mitarbeitern ist die Spektroskopie sogar zu einem überaus wertvollen quantitativen Meßverfahren geworden. Da diese Erfolge mit Verfahren errungen wurden, die auch aus anderen Gründen im Brennpunkte des Interesses stehen, nämlich wegen ihren Beziehungen zu den Problemen der Atomstruktur, sind diese Forschungen in weiten Kreisen bekannt geworden und haben überall die ihnen gebührende Beachtung und Anerkennung gefunden. Anders steht es mit den Fortschritten, welche die rein chemische Analyse in neuerer Zeit gemacht hat. Sie sind im allgemeinen nur einem kleinen Kreis von Eingeweihten vertraut, und es ist vor allem nicht genügend bekannt, daß auch hier mit der Verfeinerung der Arbeitsmethoden zugleich ein Gebiet erschlossen worden ist, das schon jetzt wichtige theoretische Erkenntnisse ermöglicht hat, und das sicher imstande ist, bei weiterer Bearbeitung noch auf den verschiedensten Wissensgebieten Anregungen zu liefern.

Selbst die vielfach vertretene Behauptung, daß die physikalischen Methoden den chemischen an „Empfindlichkeit" überlegen seien, ist unrichtig. Der Trugschluß beruht im wesentlichen darauf, daß Empfindlichkeit ein ganz verschwommener Begriff ist, der nach drei Richtungen hin aufgelöst werden muß.

„Welches ist die kleinste Menge Stoff, die man mit einer bestimmten Reaktion noch nachweisen kann?" Diese Menge nennen wir die Erfassungsgrenze der betreffenden Reaktion für diesen Stoff und geben sie entweder in γ oder in 10^{-n} g.

„Welches ist die geringste Konzentration, in der man einen Stoff noch nachweisen kann?" Diese Konzentration nennen

[1]) Z. B. Naturwiss., **19**, 25, 1931.

wir Grenzkonzentration und geben sie in $\gamma \cdot cm^{-3}$ oder einem anderen geeigneten Konzentrationsmaß. (Es ist zu beachten, daß Erfassungsgrenze und Grenzkonzentration nicht unabhängig voneinander sind, so daß z. B. für die Grenzkonzentration Angabe der anzuwendenden Lösungsmenge erforderlich ist. Davon wird weiter unten zu reden sein.) Da bei verdünnten wäßrigen Lösungen das spezifische Gewicht praktisch gleich 1 ist, kommt die Angabe der Grenzkonzentration, wenn sie in der Form „g Stoff in ccm Lösung" gemacht wird, auf die Angabe unbenannter Zahlen heraus, so daß auch die Bezeichnung „Grenzkonzentration $= 10^{-6}$" ohne weiteres verständlich ist. Sie bedeutet: 10^{-6} g gelöster Substanz im ccm. — Und drittens:

„Welche Menge eines gesuchten Stoffes kann im Gemisch mit größeren Mengen irgendeines Fremdstoffes noch erkannt werden?" Wir bezeichnen diesen Teilbegriff der Empfindlichkeit mit Grenzverhältnis des Stoffes A gegen den Stoff B. Hier liegt das Gebiet, in dem die physikalischen Methoden den chemischen jetzt noch vielfach überlegen sind, besonders soweit die serienweise Prüfung gleichartiger Stoffe oder Stoffgemische in Betracht kommt. Für die Ermittlung kleinster Spuren gewisser Fremdmetalle im Gold gibt es z. B. bis jetzt kein chemisches Verfahren, das sich mit den von Gerlach ausgearbeiteten spektroskopischen Methoden auch nur einigermaßen messen könnte. Aber selbst auf diesem Sondergebiet können die Dinge auch umgekehrt liegen. Schon im Jahre 1922 habe ich eine Probe reinsten Nickels untersucht, die ein irgendwie ungewöhnliches Verhalten zeigte; es konnte mit einem von mir gefundenen katalytischen Nachweis[2]) in diesem Nickel 0,001% Kupfer nachgewiesen werden, was — zumindesten damals — spektroskopisch nicht möglich war. Hinsichtlich der Erfassungsgrenze aber und der Grenzkonzentration sind in weitaus den meisten Fällen die chemischen Verfahren den physikalischen überlegen, sind doch Erfassungsgrenzen von 10^{-8} g und Grenzkonzentrationen von 10^{-5} oder 10^{-6} durchaus nichts Ungewöhnliches mehr, ja vielfach werden sie sogar noch merklich unterschritten.

[2]) B., 55, 3070, 1922.

Wodurch ist es nun gelungen, zum Nachweis so kleiner Stoffmengen zu gelangen? Das erste war wohl in den meisten Fällen ein Absenken der Grenzkonzentration. Es wurde planmäßig nach Reagenzien gesucht, die auf die nachzuweisenden Stoffe schon bei allergrößter Verdünnung ansprechen. Drei Gruppen von Verfahren haben sich hierfür als zweckdienlich erwiesen. Erstens: katalytische oder induzierte Reaktionen. Sie arbeiten gewissermaßen nach dem Grundsatz: kleine Ursache, große Wirkung. Bei dem oben erwähnten Kupfernachweis werden durch kleinste Kupfermengen große Mengen Eisen- (3-) Salz und Thiosulfat mit veränderter Geschwindigkeit umgesetzt; im Endeffekt entsteht also ein großer Unterschied in den noch vorhandenen Eisen- (3-) Salzmengen oder, was auf dasselbe herauskommt, ein beträchtlicher Zeitunterschied bis zur völligen Reduktion des Eisen- (3-) Salzes. Beim FEIGL'schen Wismutnachweis[3]) dienen Keime metallischen Wismuts, die an sich nicht sichtbar werden würden, als Anregungszentren für eine sofort einsetzende Abscheidung metallischen Bleis, die ohne die Wismutkeime vielleicht Stunden brauchen würde, und die mühelos zu erkennen ist. In die gleiche Gruppe mag man die Reaktionen zählen, bei denen die Steigerung der Reaktionsfähigkeit durch Komplexbildung eine Rolle spielt, wie FEIGL-schen Nachweise von Kieselsäure oder Phosphorsäure mit Molybdat und Benzidin, die zur Bildung von kräftig gefärbtem Molybdänblau und Benzidinblau führten[4]). Es ist ohne weiteres einleuchtend, daß die nähere Untersuchung derartiger Reaktionen nicht nur analytisch wichtig ist, sondern auch viel zur Klärung katalytischer und verwandter Fragen beitragen kann.

Eine zweite Möglichkeit, zu außerordentlich niedrigen Erfassungsgrenzen zu gelangen, liegt in systematischer Forschung auf dem Gebiet der innerkomplexen Metallsalze. Sie zeichnen sich meist durch geringe Löslichkeit aus; vielfach treten überdies sehr deutliche Umfärbungen auf, offenbar, weil durch die Valenzbeanspruchung bei der Komplexbildung die Bindungsverhältnisse im Innern des organischen Moleküls wesentlich verändert werden. Eines der markantesten Bei-

[3]) B., **62**, 1138, 1929.

[4]) Mikrochemie, PREGL-Festschrift, S. 82, 1929; Ztschr. analyt. Chem., **77**, 299, 1929.

spiele ist das ja schon lange bekannte Nickel-diacetyldioxim. Aus dem farblosen organischen Stoff und dem grünlichen, bei den in Betracht kommenden Konzentrationen ebenfalls farblosen Nickelion entsteht das leuchtend rote, sehr schwer lösliche innerkomplexe Salz. Derartige Reagenzien sind nun in den letzten Jahren für außerordentlich viele Stoffe aufgefunden worden. Ich erinnere an das 1-, 2-, 5-, 8-Tetraoxyanthrachinon, das je nach den Reaktionsbedingungen ein überaus empfindliches Reagens auf Magnesium, Beryllium oder Aluminium (F. Hahn, H. Fischer, J. Kolthoff[5]) darstellt; an das rhodizonsaure Natrium, das mit den so schwer zu erfassenden Erdalkalien Barium und Strontium eine charakteristische Farbreaktion gibt, mit der diese einzeln und nebeneinander erkannt werden können (Feigl[6]); an das Dimethylaminobenzylidenrhodanin, ein prachtvolles Farbreagens auf Silber (Feigl[7]), das, vom Silbernachweis selbst abgesehen, eine außerordentlich interessante und wichtige Anwendung zum Nachweis von Phosphorseigerungen in Metallen gefunden hat (Niessner[8]). Es ist klar, daß auch der weitere Ausbau dieses Forschungsgebietes neben den analytischen theoretische Erkenntnisse liefern wird: muß er uns doch schließlich einen Einblick in die Frage gewähren, welche Atomgruppierungen bei bestimmten Stoffen spezifisch ansprechen und warum sie es tun, eine Frage, deren Klärung bisher noch sehr in den Anfängen steckt. Eben aus diesem Grunde ist auch ein Nachweis kleiner Mengen eines Stoffes neben größeren Mengen anderer bis jetzt noch nicht überall möglich, aber immerhin kann z. B., um nur einen Fall besonders nahe verwandter Elemente zu erwähnen, 1 Teil Sr neben 100 Teilen Ba durch Tüpfeln mit rhodizonsaurem Natrium noch sicher erkannt werden[9]).

Der Weg, auf dem die außerordentlich kleinen Erfassungsgrenzen erreicht worden sind, besteht darin, daß zu diesen überaus

---

[5]) Mg: B., **57**, 1394, 1924; Be: Ztschr. analyt. Chem., **73**, 54, 1928; Al: C., **1927**, II, 2087 und eigene Versuche, über die demnächst berichtet werden wird.

[6]) Mikrochemie, **II**, 187, 1924, oder: Fritz Feigl, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, S. 236 ff. (1931, Akadem. Verlagsgesellschaft).

[7]) Ztschr. analyt. Chem., **74**, 380, 1928; „Tüpfelreaktionen", S. 125.

[8]) Mikrochemie, **VIII**, 339, 1930.

[9]) F. Feigl, „Tüpfelreaktionen", S. 238, und eigene Versuche.

empfindlichen Methoden eine Arbeitstechnik erprobt wurde, die eine weitgehende Annäherung der praktischen an die theoretische Empfindlichkeit erreicht hat. Unter der praktischen Empfindlichkeit versteht man nach EMICH[10]) die Menge Stoffe, die erforderlich ist, um eine gerade eben erkennbare Reaktion durchzuführen, also, am Beispiel einer Kristallfällung erläutert, die Gesamtmenge Stoff, die in dem zur Reaktion gebrachten Tropfen vorhanden ist. Hierbei entstehen aber bereits zahlreiche Kristalle, während ein einzelner, gut ausgebildeter Kristall an sich für den Nachweis bereits genügen würde. Die Menge Stoff, die in ihm enthalten ist, kennzeichnet die theoretische Empfindlichkeit der Reaktion. Je besser es gelingt, ganz kleine Lösungsmengen zu handhaben, und die aus ihnen entstehende Fällung an einer möglichst kleinen Stelle anzuhäufen, desto weiter nähert sich offenbar die praktische Empfindlichkeit der theoretischen. Hierfür hat sich in den letzten Jahren ein Arbeitsverfahren vorzüglich bewährt. Man bringt Stoff und Reagens nicht auf einem Objektträger zusammen, sondern läßt sie nacheinander in feine Prüfkapillaren eintreten, die am Ende hauchdünn ausgezogen sind, schmilzt sie zu, läßt sie sich am oberen Ende abknicken und hängt sie nun in eine einfach herzustellende Motorzentrifuge ein[11]). Die Flüssigkeitströpfchen, die man auf diese Weise handhaben kann, sind außerordentlich klein; sie brauchen nur wenige Hundertstel Kubikmillimeter zu betragen. (Gemessen wurden sie durch Abwägen der Kapillaren auf einer HARTMANN und BRAUN'schen Torsions-Mikrowaage.) Dementsprechend sind auch die Erfassungsgrenzen selbst dann außerordentlich niedrig, wenn die Grenzkonzentrationen nicht übermäßig klein sind. Es ergeben sich z. B. folgende Zahlen:

	Grenzkonzentration	Erfassungsgrenze Lösungsmenge	
Mg mit Tetraoxyanthrachinon . .	$2{,}10^{-5}$	0,05 cmm	10^{-9} g
Ni mit Diacetyldioxim	10^{-5}	0,05 cmm	$5{,}10^{-10}$ g
Ca mit Kaliumferrocyanid u. Ammonchlorid[12])	10^{-4}	0,05 cmm	$5{,}10^{-9}$ g

[10]) Lehrbuch der Mikrochemie, 2. Aufl., S. 2.

[11]) Mikrochemie, PREGL-Festschrift, 1929, S. 127.

[12]) Hier zeigt sich besonders deutlich die Überlegenheit des Zentrifugierens

Nun wurde oben erwähnt, daß Grenzkonzentration und Erfassungsgrenze nicht unabhängig voneinander sind, sondern in wechselseitiger Beziehung stehen. Man kann dies durch eine ganz einfache Überlegung als selbstverständlich erweisen. Geht man von einer recht konzentrierten Lösung aus, so ist die Erfassungsgrenze naturgemäß lediglich davon abhängig, welches die kleinste Lösungsmenge ist, die man mit den angewandten apparativen Hilfsmitteln handhaben kann. Halbiert man jetzt die Konzentration der Lösung, so wird die Reaktion immer noch mit der gleichen Lösungsmenge eintreten, also die nachweisbare Menge Stoff auf die Hälfte abgesunken sein und so fort. Schließlich aber wird eine Konzentration kommen, bei der ein weiteres Verdünnen der Lösung dazu führt, daß man größere Lösungsmengen anwenden muß, um noch eine erkennbare Reaktion zu erhalten. Solange die anzuwendenden Lösungsmengen nicht proportional der Konzentrationsverminderung ansteigen, sondern in geringerem Maße, sinkt die Erfassungsgrenze weiter ab. Aber schließlich — das ist ja bekannt — gibt es eine Verdünnung, bei der die Reaktion überhaupt nicht mehr eintritt, selbst wenn man beliebig große Lösungsmengen prüft. Hier ist also die Erfassungsgrenze gewissermaßen unendlich groß geworden. Es muß danach beim allmählichen Verdünnen der Lösung ein Punkt kommen, von dem ab die anzuwendenden Lösungsmengen nicht proportional der zunehmenden Verdünnung, sondern in stärkerem Maße ansteigen. Unmittelbar vor diesem Punkt liegt offenbar die niedrigste Erfassungsgrenze, die man überhaupt bei dieser Reaktion erreichen kann. Anderseits gelingt eben die gleiche Reaktion noch in wesentlich verdünnterer Lösung, wenn man nur vielfach größere Lösungsmengen anwendet, so daß also das Minimum der Grenzkonzentration und das Minimum der Erfassungsgrenze bei völlig verschiedenen Reaktionsbedingungen erreicht werden.

Es scheint recht wichtig, diese Zusammenhänge in dem Verhalten von Erfassungsgrenze und Grenzkonzentration an einer

vor der einfachen Tropfenprobe. Da die feine Trübung bei der geringen Schichtdicke auf der Tüpfelplatte schwer zu erkennen ist, reicht die Tropfenprobe nur bis zur Konzentration 1 : 2000 und der Erfassungsgrenze 25 γ ($25 \cdot 10^{-6}$ g). Die Zentrifugenreaktion ist infolge der Zusammendringung des Niederschlages der Konzentration nach fünfmal, der Menge nach 5000mal empfindlicher.

Reihe von geeigneten Reaktionen zu prüfen. Bis jetzt wurde der Nickelnachweis mit Diacetyldioxim darauf untersucht. Bei einer Konzentration von 10 γ im ccm an Nickel genügten die kleinsten, überhaupt handhabbaren Tröpfchen immer, um eine deutlich erkennbare, ja sogar — bei mikroskopischer Betrachtung — reichliche Kristallfällung hervorzurufen. Diese Tröpfchen wogen 0,05 mg oder weniger. Mit $5 \cdot 10^{-10}$ g ist demnach die Erfassungsgrenze unter diesen Bedingungen sicher nicht zu hoch angenommen. Verdünnt man aber die Lösung auf die Hälfte, so ist bei 0,1 mg Lösung die Reaktion bereits recht unsicher. Sicher gelingt sie erst bei Lösungsmengen, die 0,2 mg betragen. Die Erfassungsgrenze ist also mindestens auf das Doppelte gestiegen. Verdünnt man weiter, so ist bei dieser Ausführungsform kaum noch eine Fällung zu erzielen, während man bei der Reagenzglasprobe Nickel noch in Konzentrationen von 1—2 $\gamma \cdot cm^{-3}$ sicher erkennen kann.

Eine recht interessante Möglichkeit, die Grenzkonzentration von Farbreaktionen unter das Maß herabzudrücken, das sie bei gewöhnlicher Ausführung haben, besteht in adsorptiver Anreicherung des nachzuweisenden Stoffes auf Filtrierpapier. Läßt man einen Tropfen Stofflösung von etwa 10 cmm auf Filtrierpapier fallen, das mit Reagens getränkt ist, oder bringt man umgekehrt erst den Stoff auf das Papier und tüpfelt man dann mit Reagens nach, so wird unterhalb einer bestimmten Konzentration die Reaktion ausbleiben. Man erhält sie aber wieder vollkommen deutlich, wenn man folgendermaßen verfährt: ein Kapillarröhrchen von etwa 0,5 bis 1 mm Durchmesser wird an einem Ende spitz ausgezogen und die Stofflösung darin eingesaugt. Dann setzt man die ausgezogene Spitze mit leichtem Druck auf das Reagenspapier auf und läßt das Röhrchen in dieser Lage ruhen. Von der „Einstichstelle" an breitet sich die Stofflösung konzentrisch nach außen aus. Aber der gelöste Stoff wird dabei nicht gleichmäßig mit ausgebreitet, sondern in der nächsten Umgebung der Einstichstelle adsorptiv festgehalten. Man erhält jetzt — sei es, daß das Papier schon vorher mit dem Reagens getränkt war, sei es, daß nachträglich mit dem Reagens angetüpfelt wird — einen wesentlich kleineren, aber wieder deutlich erkennbar gefärbten Fleck. Beim Nickelnachweis mit Diacetyldioxim liegt die Grenzkonzentration für das Auftropfen bei 10^{-6}

für das Einstechen bei 10^{-7}, wenn beide Male 10 cmm Lösung angewendet werden, so daß also die Erfassungsgrenzen unter diesen Umständen bei 10^{-8} und 10^{-9} g liegen. Selbstverständlich kann man diesen Effekt der adsorptiven Anreicherung in geeigneten Fällen dadurch unterstützen, daß man das Reagenzpapier zunächst mit irgendeinem niederschlagsbildenden Stoffe tränkt, der den nachzuweisenden an der Einstichstelle festhält; beim Nachweis von Strontium oder Barium mit rhodizonsaurem Natrium ist es z. B. vorteilhaft, das Papier mit Natriumphosphat zu tränken, zu trocknen, dann die zu prüfende Lösung einfließen zu lassen, wieder zu trocknen und jetzt erst mit rhodizonsaurem Natrium nachzutüpfeln. Man kann so die von FEIGL in seinem vortrefflichen Buch angegebene Grenzkonzentration noch merklich verbessern. (Wie mir Herr FEIGL freundlichst mitteilte, sind die gleichen Beobachtungen in der Zwischenzeit auch von ihm und seinen Mitarbeitern gemacht worden.)

Soviel über das Erkennen von Stoffen. Und nun noch einiges vom Messen. Daß und in welcher Weise kolorimetrische Bestimmungen mit einfachsten Hilfsmitteln und überraschend guter Genauigkeit durchgeführt werden können, ist vor kurzem von mir gemeinsam mit KLOCKMANN gezeigt worden[13]). Da wir für außerordentlich viele Stoffe höchst empfindliche Farbreagenzien besitzen, ist dies Verfahren weitgehender Anwendung fähig. — Zu überaus genauen Messungen kleinster Stoffmengen ist die potentiometrische Analyse befähigt. Hier hat das Verfahren der „Umkehrtitration“[14]), das heißt abwechselndes Übertitrieren mit Stoff und Reagens und entsprechend Ermittlung einer ganzen Reihe von Analysenwerten mit geringem Stoffverbrauch, dazu geführt, daß wenige Milligramm Substanz, ja in geeigneten Fällen sogar Bruchteile eines Milligramms, in kürzester Zeit und mit vorzüglicher Genauigkeit bestimmt werden können. Als ein weiterer Fortschritt ist es anzusehen, daß bei diesen Titrationen zugleich mit geringem Arbeitsaufwand Dissoziationskonstanten von Säuren und Basen bestimmt werden können, und zwar mit einer Genauigkeit, die von den bisher

[13]) Ztschr. angew. Chem., **43**, 993, 1930.

[14]) Ztschr. analyt. Chem., **76**, 146, 1929; weitere von R. KLOCKMANN und R. SCHULZ durchgeführte Messungen werden demnächst veröffentlicht werden.

bekannten Verfahren kaum erreicht, sicher aber nicht übertroffen wird. Auch dieses Arbeitsgebiet dürfte daher weit über den analytischen Wert hinaus für die Bearbeitung von Fragen der allgemeinen Chemie wichtig werden. Ich glaube daher: wenn auch in der „Spurensuche" die physikalischen Methoden den chemischen zurzeit noch vielfach überlegen sind, so ist das nicht etwa ein Grund, die chemisch-analytische Forschung als überholt und veraltet ruhen zu lassen. In anderen Punkten sind immer noch die chemischen Methoden die „empfindlicheren", und vor allem bietet die weitere Bearbeitung des hier umrissenen Gebietes Probleme genug, die für die analytische Chemie ebenso sehr wie für die allgemeine von hervorragender Wichtigkeit sind.

Fortschritte in der maßanalytischen Kohlenstoff- und Wasserstoff-Bestimmung im Dienste der Elementaranalyse.

Von **Josef Lindner.**

Chemisches Institut der Universität Innsbruck.

Meine Beschäftigung mit den Methoden der maßanalytischen Bestimmung von Kohlensäure und Wasser verfolgte von Anfang ausschließlich den Zweck, einwandfreie Wege zur Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes in der organischen Elementaranalyse zu eröffnen. Ich bin an diese Frage, worauf ich hier einleitend hinweisen möchte, wie viele Vorgänger, nicht als Chemiker analytischer, sondern organischer Richtung herangetreten. Bei meinen ersten Versuchen, mir die mikroanalytische Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff nach PREGL anzueignen, hatte ich aus Gründen, die mir erst später klar wurden, große Schwierigkeiten zu überwinden und meine Aufmerksamkeit wandte sich besonders der Unsicherheit in der Wägung der Absorptionsapparate zu. Es tauchte zunächst der Plan auf, die Verbrennungsprodukte überhaupt auf einem anderen Weg zu bestimmen, darauf die Frage, ob die Bestimmung nicht durch die dem Chemiker besonders ge-

legene Maßanalyse ermöglicht werden könnte. Der Leitgedanke war dabei, daß man bei der Titration den absorbierten Körper an sich erfaßt, ohne wie bei der Wägung die großen Massen von Absorptionsgefäß und Absorptionsmittel mit zu messen. Für die Bestimmung der Kohlensäure war ein bekannter Weg gegeben, beim Wasserstoff bestand die Möglichkeit, das primär auftretende Wasser mit leicht hydrolysierbaren Halogenverbindungen in Halogenwasserstoff umzusetzen und so der Titration zugänglich zu machen. Nach einigen Tastversuchen fiel die Wahl auf die aromatischen Chlorphosphine, die neben der leichten Umsetzbarkeit der anorganischen Phosphor-Chlor-Verbindungen eine hinreichend geringe Flüchtigkeit aufweisen. Für die spätere praktische Durchführung der Versuche wurde ausschließlich das Naphthyloxychlorphosphin $C_{10}H_7 . POCl_2$ verwendet. Chlorwasserstoff und Kohlensäure wurden in den ersten Versuchen gemeinsam mit Barytlauge aufgefangen, praktisch erwies es sich später als zweckmäßiger, den Chlorwasserstoff zuerst in einer kleinen Menge Wasser zur Absorption zu bringen und die Kohlensäure für sich in Barytlauge einzuleiten. Die Gangbarkeit der Methode konnte ich im Jahre 1922 in einer kurzen Mitteilung[1]) in den Berichten darlegen, eine ausführliche Beschreibung[2]) folgte im Jahre 1925 in der Zeitschrift für analytische Chemie. Das Verfahren wurde nur an wenigen Stellen aufgegriffen. Fr. Wrede, Greifswald, hat darnach längere Zeit praktisch gearbeitet, W. Küster ließ die Methode in seinem Laboratorium in Stuttgart erproben und fand, wie er mir mitteilte, besonders die Wasserstoffwerte sehr befriedigend. Derzeit dürften die Versuche größtenteils vergessen sein und es schien mir daher gerechtfertigt, das Wesen der Sache kurz zu skizzieren.

Ich selbst habe die Methode für meine Zwecke stets angewendet und sehr verläßlich gefunden, zur weiteren Einführung aber keine Schritte unternommen, weil ich mir die Aufgabe eines weiteren Ausbaues gestellt hatte. Nach den Angaben von 1925 wurden zur Titration 1/10-normale Barytlauge und Salzsäure verwendet mit 50-cm³-Büretten. Der Substanzbedarf betrug dabei 15 bis 20 mg. Es mußte möglich sein, noch zu beträchtlich kleineren Substanz-

[1]) B., **55**, 2025 (1922).
[2]) Ztschr. analyt. Chem., **66**, 305 (1925).

mengen überzugehen. Dem stand gegenüber, daß in der Verbrennungsanalyse die Werte nicht so exakt ausfielen, wie es die Titration erwarten ließ. Es lagen noch Störungen in der Verbrennungsvorrichtung vor, die sich bei kleineren Substanzmengen stärker bemerkbar machten. Das trat besonders beim Wasserstoff klar in Erscheinung, bei dem eine Genauigkeit von etwa 0,05% erreicht wurde, aber nur mittels Korrekturen auf Grund der in blinden Versuchen auftretenden Feuchtigkeit. Die Aufgabe gliederte sich also in eine Anpassung der Titrationsverfahren an kleinere Substanzmengen und in die Beseitigung der in der Verbrennungsvorrichtung liegenden Fehlerquellen.

Bestimmung der Kohlensäure.

Der Vorgang der Kohlensäurebestimmung durch Auffangen mit gestellter Barytlauge und Titrieren der überschüssigen Lauge unter Zusatz von Bariumchlorid und mit Phenolphthaleïn als Indikator wurde von Anfang mit einer gewissen Selbstverständlichkeit zur Anwendung gebracht, von erfahrener Seite wurden mir jedoch gutgemeinte Warnungen zuteil. Soweit mein Einblick reicht, stützten sich die Warnungen nicht so sehr auf Erfahrungen mit der Kohlensäurebestimmung in der angegebenen Form, sondern auf die Bestimmung von Kohlensäure in Laugen nach Cl. Winkler. Wird karbonathältige Lauge mit überschüssigem Bariumchlorid versetzt und darauf mit Phenolphthaleïn und Salzsäure auf farblos titriert, so ergeben sich für das Hydroxyd zu kleine, für das Karbonat zu hohe Werte. Die Erscheinung ist schon Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen und S. P. L. Sörensen und A. C. Andersen[3]) haben zur Erklärung die Fällung eines basischen Karbonats angenommen. Die Fällung basischer Verbindungen in irgendwelcher Form müßte offenbar in erster Linie durch eine hohe Konzentration an Hydroxylion begünstigt werden, was bei der Methode von Cl. Winkler auch zutrifft. Obgleich aber bei der Kohlensäurebestimmung mit 1/10-norm. Barytlauge eben diese Konzentration höher ist als bei den Versuchen von Sörensen und Andersen, trat der Fehler hier tatsächlich

[3]) Ztschr. analyt. Chem., **47**, 279 (1908).

nicht auf. Zahlreiche Titrationen und einschlägige Versuche haben das Verfahren als einwandfrei erwiesen. Gleichwohl hatten die Bedenken eine Berechtigung.

Die befürchteten Fehler traten auf, als zwecks Übergang zu kleineren Substanzmengen 1/20-norm. Lösungen in Verwendung genommen wurden, rätselhafterweise mit derselben Regelmäßigkeit, mit der sie bei 1/10-norm. Lösungen ausblieben. Eine Untersuchung[4]) ergab, daß sich im Karbonatniederschlag die aus dem Glasgefäß stammende Kieselsäure in Form von Bariumsilikat anreicherte. Es wurde demnach mit der Kohlensäure in vollständig übereinstimmender Weise Kieselsäure mitbestimmt, merkwürdigerweise aber nur bei 1/20-norm. Lösungen. Bekanntlich setzen Barytlaugen nach längerem Stehen in Glasflaschen aufgenommene Kieselsäure in Form von Bariumsilikat ab. Die Untersuchung zeigte nun weiter, daß verdünntere Laugen mehr Kieselsäure in Lösung halten. Die Konzentration in alten Lösungen ergab sich dem Hydroxylgehalt ungefähr umgekehrt proportional, in der 1/10-norm. Lösung zu rund 35 mg, in der 1/20-norm. Lösung zu rund 70 mg auf 1 Liter, so daß das Verhältnis, auf gleiche Hydroxydmengen bezogen, sich wie 1 : 4 ergibt. Nimmt man noch an, daß die Mitfällung von Silikat vielleicht erst bei einer bestimmten Konzentration merklich in Erscheinung tritt, so erscheint das weitgehend verschiedene Verhalten der Barytlaugen bei den geringen Konzentrationsunterschieden von 1:2 aufgeklärt. Darüber hinaus erschien aber auch ein stärkeres Hervortreten der Störung bei der Methode von Cl. Winkler verständlich, weil bei Natron- oder Kalilaugen mit einem noch höheren Gehalt an Kieselsäure zu rechnen ist.

Eine weitere Untersuchung[5]) lehrte, daß der Kieselsäure die angenommene Rolle bei der Bestimmung des Karbonatgehalts von Laugen wirklich zukommt, daß aber geringere Fehler gleicher Richtung auch bei kieselsäurefreien Lösungen auftreten. Als zweiter wesentlicher Faktor hat sich dabei die Temperatur ergeben. Wird heiß gefällt, so ergeben sich mit oder ohne Mitwirkung von Kieselsäure größere Abweichungen, vermeidet man eine Erwär-

[4]) Ebenda, **72**, 135 (1927).
[5]) Ztschr. analyt. Chem., **78**, 188 (1929).

mung vor dem Titrieren, so werden die Fehler kleiner und bleiben bei hinreichender Verdünnung der Laugen vollständig aus. Zu einem übereinstimmenden Ergebnis bezüglich Temperatur und Verdünnung sind in einer etwas später erschienenen Untersuchung[6]) W. Poethke und P. Manicke gelangt, die aber dem tatsächlichen Einfluß der Kieselsäure keine Beachtung schenkten.

Für die Vorgänge bei der Kohlensäurebestimmung glaube ich demnach folgende Annahmen aufstellen zu können: Wird nach der Fällung des Bariumkarbonats, sei es aus karbonathältiger Lauge mit überschüssigem Bariumchlorid oder durch Einleiten von Kohlensäure in Barytlauge bei Gegenwart von Bariumchlorid, mit Phenolphthalein als Indikator auf farblos titriert, so tritt stets als Nachwirkung wieder deutliche Rötung auf. Durch Erwärmung wird diese Nachwirkung in 10 bis 20 Minuten zum Abschluß gebracht und es kann nun endgültig auf farblos titriert werden. Der Niederschlag muß daher aus der alkalischen Lösung basische Bestandteile, Hydroxyd oder basisches Karbonat und außerdem Silikat aufgenommen haben und nach der Neutralisation der Flüssigkeit wieder abgeben oder es kann auch an ein langsames Eindringen der zugesetzten Säure in den Niederschlag gedacht werden. Auf jeden Fall wird bei dieser Nachwirkung der Verteilungsgrad des Niederschlages eine bedeutsame Rolle spielen. Ist der Niederschlag kristallinisch, körnig geworden, was bei Fällung in der Hitze der Fall sein muß, so bleibt ein Teil der eingeschlossenen basischen Körper der Reaktion entzogen und der Wert für die Kohlensäure fällt zu hoch aus. Tatsächlich kann diese Abweichung auch beim Einleiten von Kohlensäure in 1/10-norm. Barytlauge durch Einleiten in der Wärme provoziert werden. Wird erst nach der ersten Titration auf farblos erwärmt, so befördert dieses Erwärmen den oben angenommenen Ausgleich zwischen Niederschlag und Lösung, zugleich aber auch das Körnigwerden des Niederschlages. Die Werte fallen bei der von mir angewandten Methode der Kohlensäurebestimmung richtig aus, gewinnt aber der zweite Vorgang einen Vorsprung, so kann der Fehler wieder in Erscheinung treten. Für einen rascheren Kristallisationsprozeß können außer der Temperatur offenbar noch andere Faktoren in

[6]) Ebenda, **79**, 240 (1929).

Betracht kommen. Eine Rolle dieser Art scheint der Gegenwart von Calciumsalz zuzufallen.

Bei der Suche nach den Fehlerquellen in der Elementaranalyse hat sich die Kohlensäurebestimmung durch Auffangen mit Barytlauge ausgezeichnet bewährt, um ganz kleine Mengen bis etwa 0,01 mg mit Sicherheit zu erfassen. Die Bedeutung, die einer Mikrobestimmung für Kohlensäure besonders in der Physiologie zukommen dürfte, gab dann Anlaß, die erreichbare Genauigkeit besonders zu überprüfen. In einer Untersuchung mit Fr. Hernler, die in der Emich-Festschrift erschien und mit N. Figala neuerdings überprüft wurde, konnte gezeigt werden, daß sich Mengen von 1 mg noch mit einer Genauigkeit von mindestens 0,2% bestimmen lassen.

Zum Auffangen mußten entsprechend beschränkte Laugenmengen, 1,5 bis 2 cm^3 1,20-norm. Lösung verwendet werden. Dabei trat die zu Anfang der Versuche schon zu stellende Frage nach einem geeigneten Absorptionsgefäß neuerdings in den Vordergrund. Für die Elementaranalyse war eine geeignete Lösung in dem schon 1925 beschriebenen Absorptions- und gleichzeitigen Titriergefäß gefunden worden. Das gleiche Prinzip einer Kombination einer Absorptionsröhre mit einem Titriergefäß bewährte sich auch noch bei der weitgehenden Verkleinerung zur Aufnahme von rund 1.5 cm^3 Absorptionsmittel[7]).

Maßanalytische Bestimmung von Wasser.

Im Vergleich zu den schwierigen Fragen, die in der Kohlensäurebestimmung sich aufwarfen, ist die Bestimmung kleinerer Wassermengen nach der Phosphinmethode auf keine wesentlichen Schwierigkeiten gestoßen. Das Verfahren konnte nach dem ursprünglichen Prinzip und in der 1925 beschriebenen Form beibehalten werden. Von anderer Seite und außerhalb der Elementaranalyse ist die Methode bisher meines Wissens nur in zwei Fällen, aber mit befriedigendem Erfolg, angewendet worden, von R. Lucas und Fr. Grassner[8]) zur Bestimmung von Wasserstoff in Car-

[7]) Abbild. s. B., **59**, 2562 (1926), u. Mikrochemie, Emich-Festschrift, 1930, 193.

[8]) Mikrochemie. Emich-Festschrift, 1930, 205.

bonyleisen, von E. Dittler und H. Hueber[9]) zur Bestimmung des Wassers in Glimmern. Mir selbst hat die Methode wieder bei den Untersuchungen über Fehlerquellen in ungeänderter Form, also gerade zum Nachweis ganz kleiner Wassermengen, gute Dienste geleistet. Die praktischen Erfahrungen lassen sich etwa in folgendem zusammenfassen:

Die Abgabe von Chlorwasserstoff aus rund 5 g Naphthyl-oxy-chlor-phosphin beschränkt sich im trockenen Luftstrom bei der Versuchstemperatur von etwa 110° auf wenige Zehntausendstel Milligramm in der Stunde, dieser Wert ist aber nur schwer und nur bei langen Dauerversuchen erreichbar, die zu einer entsprechenden Erschöpfung aller Quellen von Feuchtigkeit geführt haben. Fast jede Art von Rohrverbindungen, selbst gut schließende Schliffe, lassen einen Einfluß erkennen.

Das Phosphin kann nur in flüssiger Form und im Zustand ständiger Bewegung verwendet werden. Beschläge auf Glasflächen, die mit der Feuchtigkeit in Berührung kommen, geben zu Fehlern Anlaß, weil die erste Stufe der Umsetzung nur zur Phosphinsäure $C_6H_7 . PO(OH)_2$ führt. Die Wasserstoffatome der Hydroxylgruppen müssen durch Berührung mit überschüssigem Phosphin in Chlorwasserstoff übergeführt werden. Das von Anfang verwendete Prinzip des Phosphinapparates, das Phosphin durch den Luftstrom selbst ständig durch eine 3 mm weite Spiralröhre kreisen zu lassen, hat sich stets bewährt und der Apparat hat gegenüber der Beschreibung von 1925 nur eine geringe Änderung erfahren.

In den Werten für Wasserstoff oder Wasser herrscht im allgemeinen die Tendenz zu negativen Abweichungen vor, möglicherweise kommt bei frischem Phosphin eine gewisse Aufnahme von Chlorwasserstoff in Frage. Als Maß der Genauigkeit kann angegeben werden, daß sich bei glatt verlaufenden Elementaranalysen von 3 bis 4 mg Substanz jedenfalls Übereinstimmungen im Bereich von etwa 0,05% erreichen lassen[10]).

[9]) Ztschr. anorgan. und allg. Chemie., 195, 41 (1931).

[10]) Die experimentellen Daten der inzwischen abgeschlossenen Überprüfung der Kohlensäurebestimmung mit N. Figala werden demnächst in dieser Zeitschrift, die Ergebnisse einer inzwischen durchgeführten Überprüfung der Wasserbestimmung in der Zeitschrift für analyt. Chemie bekanntgegeben (Bemerkung gelegentlich der Korrektur).

Untersuchungen über Fehlerquellen in der Elementaranalyse.

Wie bereits mehrfach erwähnt wurde, haben die etwa für eine Halbmikromethode, für die Analyse von 15 bis 20 mg Substanz ursprünglich angewandten Bestimmungsmethoden in anderer Richtung, aber wieder für Zwecke der Elementaranalyse eine erste und ausgedehnte Verwendung zur Bestimmung kleinster Mengen von Kohlensäure und Wasser gefunden. Die Ansprüche an die Verfahren bei der Ermittlung der Fehlerquellen waren in der einen Hinsicht einseitig, als es weniger auf ganz exakte Bestimmungen der Mengen als auf eine zuverlässige Erfassung geringster Spuren selbst im Bereich von Hundertsteln und Tausendsteln Milligrammen ankam. Die Auffassung, daß die Titrationsverfahren auf diesem Gebiet einen weitaus vollkommeneren Behelf als die geläufigen Absorptionsröhrchen darstellen müßten, war ein wesentlicher Beweggrund, die Untersuchungen aufzunehmen.

Den Untersuchungen über Fehlerquellen kann hier im einzelnen nicht nachgegangen werden. Bezüglich der praktischen Erfolge in der Ausführung der Elementaranalysen kann ich immerhin bereits anführen, daß mit Hilfe der vervollkommneten Apparate Analysen von 3 bis 4 mg Substanz durchgeführt werden konnten. Die Abweichungen in den Kohlenstoffwerten sind überwiegend positiv und betragen bis zu 0,2%, kommen aber in vielen Fällen den theoretischen Werten nahe. Die Abweichungen der Wasserstoffwerte sind geringer und steigen nicht über 0,1% an. Im allgemeinen liegen sie im Bereich von 0,05%.

Eine neue Mikrobestimmung des Kohlenstoffs durch nasse Verbrennung.

Von **H. Lieb.**

Medizinisch-chemisches Institut der Universität Graz.

(Vgl. MIKROCHEMIE, IX, 367.)

Über die quantitative mikroanalytische Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes.

Von **A. Friedrich.**

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Universität Wien.)

Die quantitave Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes auf mikroanalytischem Wege bildete eine der schwierigsten Aufgaben in der Schöpfung der organischen Mikroanalyse durch FRITZ PREGL[1]). Diese Bestimmung ist auch in ihrer Durchführung eine der schwierigsten unter allen mikroanalytischen Bestimmungen, da es hier eine Reihe veränderlicher Fehlerquellen gibt, welche eine ständige Überprüfung der Apparatur erfordern. So können künstlich gealterte Schläuche nach einiger Zeit wieder zu einer Fehlerquelle werden, die verwendeten Gase (Sauerstoff und Luft) sind nicht immer von der erforderlichen Reinheit, Veränderungen in der Atmosphäre können die Gewichtskonstanz der Absorptionsapparate beeinflussen und dergleichen mehr.

Die Ausführung dieser Bestimmung ist sonach auch für den geübten Analytiker, welcher mit allen Feinheiten vertraut ist, mit großem Aufwand an Zeit und Mühe verbunden, da, nach einer kurzen Arbeitspause, die Ausführung einer einzigen Bestimmung, die frische Beschickung der Apparatur und die Überprüfung derselben durch Blindversuch und Analyse von Testsubstanzen erfordert, um die Gewißheit zu haben, daß alles in Ordnung ist und richtige Resultate erhalten werden können.

In dem Bestreben, die quantitative Mikro-Kohlenstoff-Wasserstoffbestimmung von allen Fehlerquellen vollkommen unabhängig zu machen und die fehlerlose Durchführung der Bestimmung auf das einfachste und bequemste zu gestalten, wurde nachstehend beschriebene Apparatur geschaffen, welche diesen Anforderungen restlos entspricht. Die neue Apparatur stellt in allen Punkten die logische Weiterentwicklung der PREGL'schen Apparatur dar und gründet auf die Erfahrungen einer zwölfjährigen Praxis.

[1]) FRITZ PREGL, Die quantitative organische Mikroanalyse, 3. Aufl. Verlag J. Springer, Berlin 1930.

Die Absorptionsapparate.

Der erste Schritt, welcher als Grundlage für eine vereinfachte Apparatur getan werden mußte, war die Verwendung verschließbarer Absorptionsapparate. Sie machen unabhängig von atmosphärischen Einflüssen und ermöglichen die Durchführung der ganzen Verbrennung im Sauerstoffstrom. Verschließbare Absorptionsapparate wurden zuerst von BLUMER gebaut und später von FLASCHENTRÄGER[2]) zweckdienlich verbessert. Die Apparate zeigen eine gute Gewichtskonstanz, haben jedoch gegenüber den offenen Absorptionsapparaten nach PREGL den Nachteil, daß sie seitlich abstehende Verbindungsröhrchen haben, daher unbequem zu handhaben und schwerer abzuwischen sind. Außerdem können sich die drehbaren Glasstopfen von selbst lockern oder, wenn der Apparat nicht achtsam genug behandelt wird, leicht herausfallen.

Für den Bau verschließbarer Absorptionsapparate war die erprobte und bewährte Form der PREGL'schen Apparate maßgebend. Aus einer Reihe überprüfter Modelle ist schließlich der in Abb. I wiedergegebene Apparat hervorgegangen, welcher stabförmig gebaut ist und beiderseits durch zwei gleichartig konstruierte Stopfen verschlossen ist. Die Glasstopfen (Abb. I, Fig. 2) haben nach Art der Absorptionsapparate von FLASCHENTRÄGER eine querlaufende Rille und werden nur unterhalb derselben gefettet. Der Gaskanal durchstößt den Glasstopfen, geht geradlinig weiter und biegt sich erst unterhalb der Fettrille der Wandung zu, in welcher er frei nach außen mündet. Neben der Mündung hat der Stopfen eine zweite Bohrung. Das Schliffstück des Absorptionsapparates, welches den Stopfen aufnimmt, hat an einer Stelle eine kleine Ausbuchtung (Abb. I, Fig. 1 unten). Wird der im Schliffstück sitzende Stopfen so gedreht, daß die beiden Öffnungen (Mündung und Bohrung) in die Ausbuchtung des Schliffes fallen, so ist der Apparat geöffnet. Durch eine Drehung des Stopfens um wenige Millimeter von dieser Stelle wird derselbe verschlossen.

Die Anordnung des Verschlusses wurde absichtlich so gewählt, da sie gleichzeitig einen Teil der Stopfensicherung bildet. Um ein Lockern oder Herausfallen des Stopfens zu verhindern, wurde eine

[2]) Siehe PREGL, „Organische Mikroanalyse", Seite 52.

Fig. 2

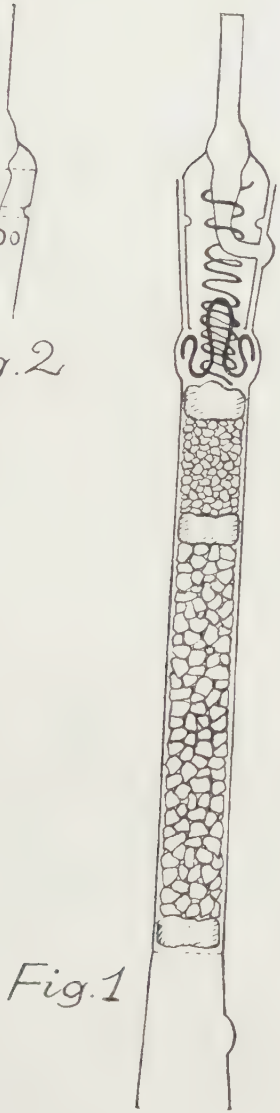


Fig. 1

Fig. 3

Fig. 4

A66. I

A66.I.A

Stopfensicherung angebracht, welche den Stopfen ständig in den Schliff drückt. Sie besteht aus einer Klemme und einer daran befestigten Spiralfeder aus rostfreiem Stahl. (Abb. I, Fig. 4.) Die Klemme besteht aus einem 2 mm breiten Stahlband, welches (durch seine Form) seitlichem Druck entgegenwirkt. Die Spiralfeder ist an die Klemme angelötet und bildet die eigentliche Stopfensicherung. Die Wirksamkeit der Stopfensicherung ergibt sich auf folgende Weise: Die Spiralfeder wird in den Glasstopfen eingeführt und durch Drehung desselben (im Sinne des Uhrzeigers) um das Einleitungsröhrchen gewickelt; die Klemme sitzt mit ihren beiden Armen am unteren Rand des Stopfens auf. (Abb. I, Fig. 3.) Wird nun der Stopfen mit Feder in den Absorptionsapparat eingeführt, so werden die beiden Arme der Klemme immer stärker zusammengedrückt, bis schließlich der Stopfen vollkommen im Schliff sitzt. In diesem Augenblick kann sich die Klemme wieder ausdehnen, da unmittelbar nach dem Schliff der Absorptionsapparat eine Ausbuchtung hat. Die Klemme preßt sich nun an die Wandung des Apparates und ist dadurch fixiert. (Abb. I, Fig. 1.) Versucht man den Stopfen herauszuziehen, so wird nur die Spiralfeder gedehnt, die Klemme bleibt in ihrer Stellung.

Die Festigkeit, mit welcher der Stopfen im Schliff gehalten wird, hängt sonach davon ab, wie weit die Spiralfeder (durch Drehung des Stopfens) angezogen wird. Es ist selbstverständlich klar, daß man die Feder nicht zu stark anziehen darf, da sonst der Stopfen schwer drehbar wird, was vermieden werden muß. Die Hahnstopfensicherung kann nur den Zweck haben, die Lockerung des Stopfens zu verhindern und ein Herausfallen desselben durch unvorsichtiges Anreißen und dergleichen unmöglich zu machen.

Das Herausnehmen eines Stopfens zwecks Neufüllung des Apparates geschieht in folgender Weise: Man dreht den Stopfen im entgegengesetzten Sinne des Uhrzeigers, bis die Spiralfeder vom Röhrchen abgewickelt ist, und zieht dann den Stopfen heraus. Dann fährt man mittels eines, vorne zu einem Häkchen umgebogenen Drahtes durch die Mitte der Spiralfeder bis zur Klemme, erfaßt diese mit dem Haken an ihrem obersten Ende und zieht die Stopfensicherung heraus.

Die Füllung der Absorptionsapparate ist dieselbe wie bei den Apparaten nach PREGL[2a]). Die Schlußstopfen und Schliffe sind numeriert, damit sie nicht verwechselt werden können. Bei dem Stopfen des Chlorcalciumrohres, welcher an die Mündung des Verbrennungsrohres anschließt, wird in das Röhrchen ein lockeres Bündel Tressensilber eingeführt, welche 2 mm vor dem Glasstopfen beginnt und bis über die Biegung des Röhrchens reicht. Dadurch wird die durch den Heizbügel (Granate) zugeführte Wärme weitergeleitet und die Kondensation von Wasser im Röhrchen verhindert. Es ergibt sich dadurch eine Zeitersparnis, worauf in einem anderen Zusammenhange später noch hingewiesen wird. Um die Stopfen bequem drehen zu können, haben die Röhrchen eine flache Erweiterung.

Ehe die vorangehend beschriebenen Absorptionsapparate in Verwendung standen, waren Absorptionsapparate in der gleichen Form, jedoch ohne Stopfensicherung im Gebrauch. Wie aus Abbildung I A ersichtlich, weisen diese Apparate die denkbar einfachste Konstruktion auf; an beiden Enden befinden sich eingeschliffene Stopfen mit Rille und einer Bohrung. Das Schliffstück des Apparates hat eine kleine Erweiterung, welche bis in die Höhe der Stopfenbohrung reicht. Durch Drehung der Stopfenbohrung an dieser Stelle wird der Apparat geöffnet.

Diese Apparate haben gegenüber den vorangehend beschriebenen Apparaten (mit Stopfensicherung) den Vorzug, daß sie einfacher zu behandeln sind, in der Herstellung wesentlich billiger kommen und die eingeschlossene Sauerstoffmenge viel geringer ist, da nur soviel Sauerstoff vorhanden ist, als zwischen der Füllung Raum bleibt. Das Hauptvolumen, der Stopfeninhalt, entfällt, nachdem die Stopfen nach außen offen sind. Die Bedingungen für eine ideale Gewichtskonstanz der Apparate sind hier günstiger.

Der Nachteil dieser Apparate, das leichte Lockern oder Herausfallen der Stopfen, konnte in letzter Zeit durch Auffindung eines geeigneten Schmiermittels im weitgehenden Maße behoben werden. Durch Zusammenschmelzen von 10 Teilen reinen Vaselins

[2a]) Über die Verwendung von Askarite und Phosphorpentoxyd an Stelle von Natronkalk und Chlorcalcium liegen bei diesen Apparaten noch keine praktischen Erfahrungen vor..

mit 14 Teilen Kolophonium (gründlich gerührt) erhält man nach dem Erkalten eine fadenziehende Masse, welche sich mit dem Finger bequem auftragen läßt, beim Abkühlen auf Zimmertemperatur jedoch sehr zäh wird. Der unterhalb der Fettrille bestrichene Stopfen wird mit rascher Bewegung in den Schliff gedrückt, dann der Stopfen gedreht. Nach einiger Zeit ist der Stopfen nur mehr langsam drehbar und erfordert einen stärkeren Zug, um aus dem Schliff gerissen zu werden. Wurde zu viel Schmiermittel aufgetragen, so daß sich der Gasdurchgang teilweise verstopft, reißt man den Stopfen heraus, entfernt den überflüssigen Anteil und steckt ihn mit einem Schlag wieder in den Schliff zurück. Der Apparat darf dem Gasstrom keinen Widerstand entgegensetzen, der Gasregulator muß nach Anschalten der Absorptionsapparate dieselbe Gasgeschwindigkeit anzeigen wie vorher. Die Apparate[3]) haben sich ausgezeichnet bewährt.

Behandlung der Absorptionsapparate.

Um eine tadellose Gewichtskonstanz der Apparate zu erreichen, wird folgender Vorgang eingehalten. Die an die Verbrennungsapparatur angeschalteten Absorptionsapparate werden so geschlossen, daß man zunächst nur den letzen Stopfen des Natronkalkrohres schließt, dann 5 bis 10 Sekunden wartet, ehe man den vorderen Stopfen des Apparates schließt. Durch den einseitigen Verschluß des Apparates kommt eine Stauung des Gasstromes zustande, so daß nach Schließen des zweiten Hahnes ein kleiner Überdruck an Sauerstoff vorliegt. Auch das Chlorcalciumrohr wird in derselben Weise geschlossen. Die Apparate werden dann an die Waage gelegt, dort einige Minuten belassen, damit sie die Temperatur annehmen, und dann erst abgewischt.

Vor dem Abwischen wird der Apparat durch Drehung eines Stopfens für zwei Sekunden geöffnet, der Überdruck abgelassen, dann wieder geschlossen. Das Abwischen erfolgt in der Weise, daß man den Apparat mit vier Fingern in der linken Hand umfaßt, indes der Daumen den Stopfen niederhält;

[3]) Auch hier schiebt man in den Stopfen, welcher an das Verbrennungsrohr anschließt, ein Bäuschchen Tressensilber, um die Kondensation von Wasser zu verhindern. Werden bei längerem Lagern die Stopfen schwer drehbar, wärmt man den Schliff (durch Halten zwischen den Fingern) etwas vor und dreht dann den Stopfen einige Male; gelingt dies nicht mehr, dann Stopfen entfernen, mit etwas Benzol reinigen und frisch einschmieren.

das Verbindungsröhrchen wird dann energisch mit dem Rehlederlappen außen abgewischt, die Innenseite wie bei den PREGL'schen Apparaten mittels eines Wattebäuschchens gereinigt. Sind die beiden Verbindungsröhrchen gereinigt, und das ist das Wichtigste, da nur diese Stellen beschmutzt werden, so wird der übrige Teil des Apparates durch einfaches Abwischen gereinigt. Man hält den Apparat mit dem Rehleder an einem Schliffstück und wischt vom oberen Stopfen beginnend zwei Drittel der Mantelfläche ab; dann legt man den Apparat um und reinigt vom zweiten Stopfen ausgehend neuerlich die Mantelfläche. Ein langes Frottieren hat keinen Zweck, da dieselbe (nur mit reinen Händen angefaßt) nicht verschmutzen kann.

Neue Apparate werden vor dem erstmaligen Gebrauch in verdünnte heiße Salzsäure gelegt (ohne Stopfen), dann mit Wasser und Alkohol abgespült und getrocknet[4]).

Die Apparate zeigen eine ausgezeichnete Gewichtskonstanz und sind in bezug auf die Wägungen an keine Zeit gebunden. Man kann dieselben schon drei Minuten nach dem Abwischen auf die Waage legen und eine Minute später zur Wägung bringen.

Die Zuleitungsapparatur.

Die Apparate, welche sich zwischen Gasometer und Verbrennungsrohr befinden, haben den Zweck, die Gase (Sauerstoff, Luft) in einer bestimmten Geschwindigkeit (4 ccm pro Minute) und in vollkommen reinem Zustande dem Verbrennungsrohre zuzuführen.

Bei der PREGL'schen Verbrennungsapparatur wurden diese Bedingungen durch den Druckleger und den Blasenzähler erfüllt. Der Druckregler bedurfte einer beständigen Überprüfung (Flüssigkeitsniveau, Gaszufuhr); die Messung der Gasgeschwindigkeit am Blasenzähler beanspruchte stark die Aufmerksamkeit des Experimentators und war wegen der ständigen Druckschwankungen weniger genau. Für die Reinigung der Gase war nur der Blasenzähler vorhanden, worin eine gewisse Unvollkommenheit lag. Im Blasenzähler wurden nur Kohlendioxyd und Wasser zurückgehalten, indes organische Verunreinigungen der Gase in das Verbrennungsrohr gelangten, dort zu Kohlendioxyd und Wasser verbrannten und erhöhte Kohlenstoff-, bezw. Wasserstoffwerte bedingten.

Diese organischen Verunreinigungen der Gase, die bis zu einem gewissen Grade immer vorhanden sind, bildeten einen der wesentlichsten, unkontrollierbaren Fehlerquellen der Mikro Kohlenwasserstoffbestimmung. Auf diese Verhältnisse wurde in einer früheren Veröffentlichung[5]) hingewiesen; die zweckdienliche und praktische Beseitigung der Fehlerquelle wurde durch das Katalysatorröhrchen von BÖCK und BEAUCOURT[6]) erreicht. Durch die Anordnung des Blasenzählers, in dessen U-Rohr

[4]) A. FRIEDRICH, Beitrag zur Mikro-Kohlenstoff-Wasserstoffbestimmung nach F. PREGL, Ztschr. f. angew. Chem. **36**, 481 (1923).

[5]) l. c.

[6]) Mikrochemie, **X**, 12 (1928).

Chlorcalcium und Natronkalk nebeneinander gelagert sind, kam es zu einem Feuchtigkeitsaustausch der beiden Präparate, wodurch erhöhte Wasserstoffwerte bedingt waren, bezw. zur Erreichung richtiger Wasserstoffwerte immer eine frische Beschickung des Blasenzählers und der Adsorptionsapparate nötig war[7]).

In der neuen Apparatur werden diese Fehlerquellen von vorneherein ausgeschaltet, so daß der Experimentator in dieser Hinsicht jeder Rücksichtnahme enthoben ist.

Die verschließbaren Absorptionsapparate gestatten die Durchführung der Verbrennung im Sauerstoffstrome. Dadurch war auch die Möglichkeit gegeben, die Regulierung des Gasdruckes und die Messung der Gasgeschwindigkeit in ein kleines Apparatchen zu vereinigen.

1. Der Gasregulator.

Zur Messung der Gasgeschwindigkeit wurde ein Apparat nach dem Prinzip des Gasströmungsmessers von RIESENFELD verwendet. Diese Gasströmungsmesser bestehen bekanntlich aus einer horizontalen Röhre, an welche in senkrechter Richtung ein U-Rohr angeschmolzen ist, welches bis zur halben Höhe mit einer Flüssigkeit gefüllt wird. In dem Teil der horizontalen Röhre, welcher zwischen den beiden Mündungen des U-Rohres liegt, ist eine Kapillare eingesetzt. Strömt Gas durch die horizontale Röhre, so wird diesem durch die kapillare Verengung ein Widerstand entgegengesetzt. Der entstandene Gasdruck pflanzt sich durch den einen Schenkel des U-Rohres fort und verschiebt das Niveau der darin befindlichen Flüssigkeit. Durch Messung wird ein für alle Male ermittelt, welcher Gasgeschwindigkeit eine bestimmte Verschiebung der Flüssigkeit entspricht.

Einen solchen Gasströmungsmesser in die Mikroanalyse einzuführen, scheiterte an der technischen Schwierigkeit, eine geeignete Kapillare zu finden. Die Gasgeschwindigkeit, welche hier gemessen werden soll, beträgt 3 bis 5 ccm pro Minute. Um für diese geringe Gasgeschwindigkeit eine nennenswerte Verschiebung des Flüssigkeitsniveaus zu erhalten, muß eine Haarkapillare in den Strömungsmesser eingesetzt werden. Nachdem das Lumen solcher Haarkapillaren schwer zu beurteilen ist, müßte eine Unzahl solcher

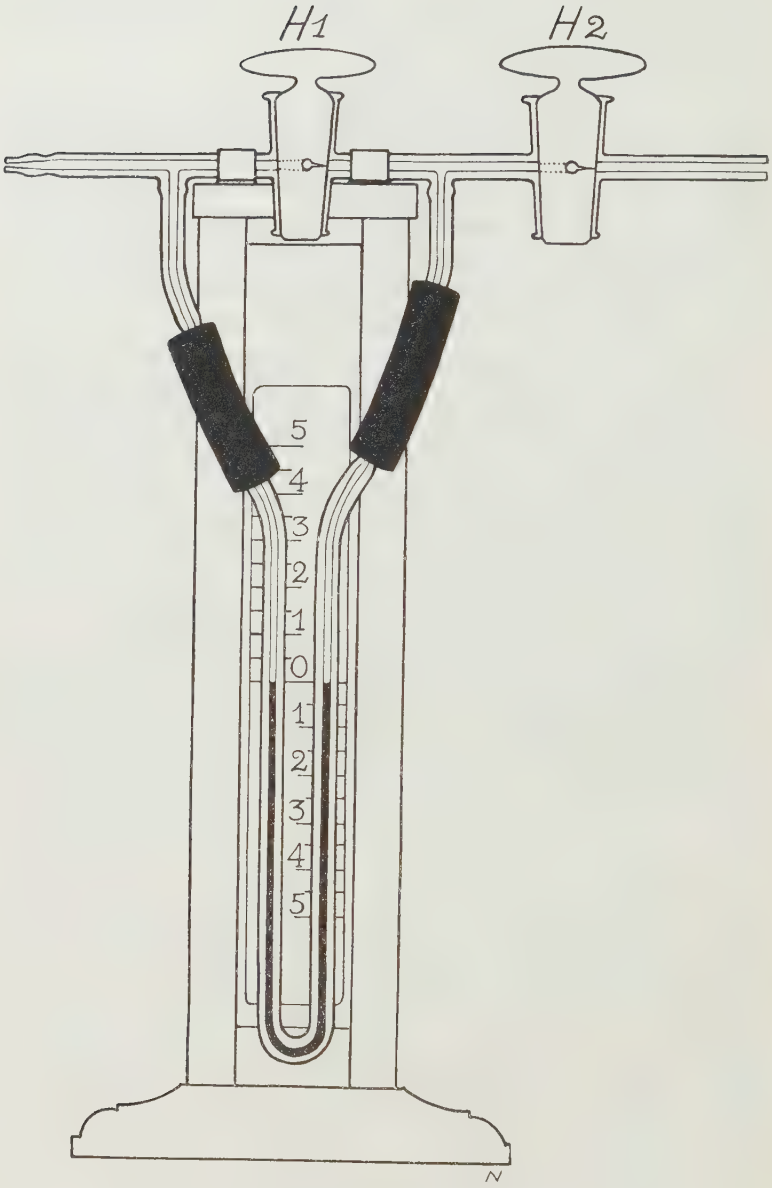
[7]) A. FRIEDRICH, „Über Mikro-Kohlenstoff-Wasserstoffbestimmung", Mikrochemie, I. (1931).

Kapillaren geprüft werden, bis sich schließlich eine findet, welche bei der gegebenen Gasgeschwindigkeit den gewünschten Ausschlag des Strömungsmessers ergibt.

Diese technische Schwierigkeit wurde in einfacher Weise dadurch behoben, daß an Stelle einer Kapillare ein Hahn mit angefeilter Bohrung (sogenannte Feineinstellung) verwendet wurde, wie er seinerzeit zur Gasregulierung bei der Mikro-Stickstoffbestimmung (Dumas) von PREGL eingeführt wurde. Durch einfache Drehung dieses Hahnes läßt sich nun jeder gewünschte kapillare Widerstand einstellen, wodurch der Gasströmungsmesser, für jeden Bereich regulierbar, zum Universalströmungsmesser wird.

In Abb. II ist der Apparat, welcher Gasgeschwindigkeitsmesser und Druckregler gleichzeitig ist (er wird der Einfachheit halber als „Gasregulator" bezeichnet) wiedergegeben. Er hat außer dem Hahn H_1, welcher die Kapillare ersetzt, noch den Hahn H_2, welcher ebenfalls Feineinstellung besitzt. Das U-Rohr ist der Bequemlichkeit halber ein Stück für sich und mit dem oberen Teil des Apparates durch Druckschläuche verbunden. Die Röhren stoßen im Kautschukschlauch zusammen. Als Meßflüssigkeit dient Paraffinum liquidum, welches mit etwas Sudan angefärbt ist.

Zur Aichung des Strömungsmessers läßt man in der Richtung von Hahn H_2 her Sauerstoff durchströmen und verbindet das entgegengesetzte Ende mit der MARIOTT'schen Flasche. Zunächst stellt man den Hahn H_1 auf volle Öffnung und reguliert den Hahn H_2 so ein, daß ungefähr 4 ccm Gas pro Minute durchströmen (gemessen am abtropfenden Wasser der MARIOTT'schen Flasche). Dann dreht man den Hahn H_1 so weit zu, daß die im U-Rohr befindliche Flüssigkeit genau um 20 mm vom Niveau abweicht. Durch diese Drosselung des Hahnes H_1 wird die Gasgeschwindigkeit vermindert und der Hahn H_2 muß neuerlich auf 4 ccm Gas eingestellt werden. Es gelingt leicht, innerhalb einer halben Stunde den Hahn H_1 so zu stellen, daß bei Durchgang von 4 ccm Gas pro Minute das Flüssigkeitsniveau genau 20 mm vom Nullpunkt entfernt ist. Die Skala ist verschiebbar. Bei dieser Einstellung entspricht der Durchgang von 1 ccm Gas pro Minute einer Verschiebung der Flüssigkeit um 5 mm. Hat man die richtige Einstellung des Hahnes erreicht, überprüft man dieselbe nochmals durch einen Versuch, in welchen man durch 25 Minuten Sauerstoff



A66.II

durchströmen läßt, während die Flüssigkeitssäule genau um 20 mm verschoben ist. Das gemessene Volumen muß rund 100 ccm betragen.

Die ganze Aichung des Strömungsmessers bedarf ungefähr einer Stunde Zeit. Ist der Hahn H_1 richtig gestellt und überprüft, läßt man einen Tropfen KRÖNIG'schen Glaskitt auf denselben fallen, wodurch seine Einstellung ein für alle Male fixiert ist. Der Hahn H_2 bleibt für die Einstellung der jeweils gewünschten Gasgeschwindigkeit beweglich.

Der Gasregulator läßt eine bedeutend genauere Messung des Gasstromes zu, als sie für die Bestimmung erforderlich ist. Nachdem der Widerstand des geheizten Verbrennungsrohres praktisch immer derselbe ist, braucht man auch den Hahn H_2 nur manchmal nachzustellen. Der Experimentator hat sonach nur den Gasometerhahn zu öffnen und auf der Skala die Gasgeschwindigkeit abzulesen. Hat nach mehrstündigem Betrieb der Druck des Gasometers nachgelassen, so sinkt das Niveau im Strömungsmesser um einige Millimeter. Man klopft mit der Rückseite eines Hornlöffels auf die Hahnspindel H_2 und korrigert damit den Gasdruck für die nächsten Stunden.

Veränderungen der Gasgeschwindigkeit während der Verbrennung sind direkt an der Skala ersichtlich; kommt es zur Explosion einer Substanz, so ruft der momentane Druck eine Senkung der Flüssigkeitssäule im vorderen Schenkel hervor. Diese wird jedoch durch den Widerstand des Kapillarhahnes H_2 und den Gegendruck des Gasometers wieder aufgehalten, so daß es nur zu einer vorübergehenden Verschiebung der Menisken kommt.

2. Das Katalysatorröhrchen.

An den Gasregulator anschließend kommen zwei Apparatchen, welche die Gasreinigung besorgen. Das erste ist das von BÖCK und BEAUCOURT[8]) geschaffene Katalysatorröhrchen. Es besteht, wie Abb. III zeigt, aus einem kleinen Röhrchen K, welches mit Platinasbest gefüllt ist und vom Gasstrom der ganzen Länge nach durchströmt wird. Über das Röhrchen ist ein elektrischer Heizkörper H gestülpt, welcher direkt an die Stromleitung angeschlossen werden kann und das Röhrchen in kurzer Zeit bis zur dunklen Rotglut erhitzt. Der Heizkörper hängt mittels seines oberen Zuleitungsdrahtes auf einer Gabel. In diesem Röhrchen werden sämtliche organische Verunreinigungen des Gases, woher immer sie stammen, zu Kohlendioxyd und Wasser verbrannt. An das Katalysatorröhrchen

[8]) l. c.

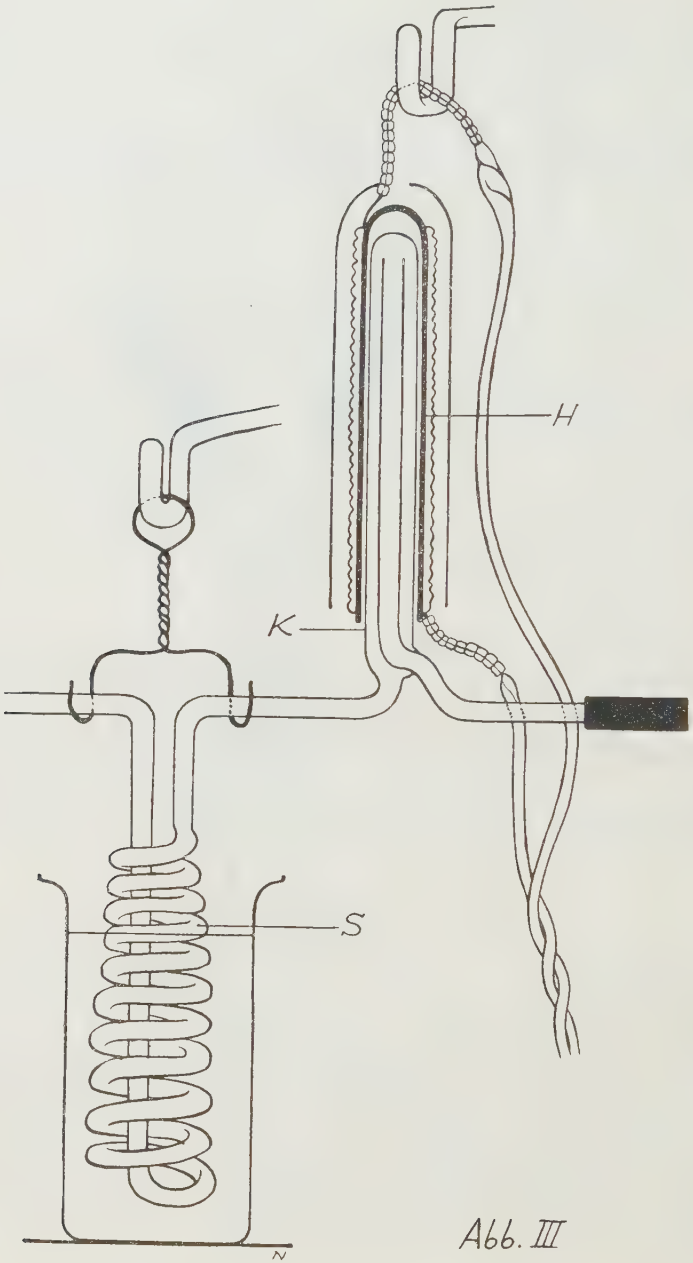


Abb. III

wurde eine Kühlspirale S angeschmolzen, die in ein Becherglas mit Wasser taucht und das erhitzte Gas kühlt, ehe es die nächsten Schlauchverbindungen passiert.

Die Durchführung einer Verbrennung im Sauerstoffstrom allein ist ohne Anwendung des Katalysatorröhrchens nicht möglich, da eine größere Menge nicht gereinigten Sauerstoffes immer eine fehlerhafte Gewichtszunahme des Natronkalkrohres bedingt.

3. Das U-Rohr.

Der die Kühlspirale verlassende Sauerstoff enthält nur mehr Kohlendioxyd und Wasser. Die Absorption derselben geschieht im U-Rohr (Abb. IV), welches an

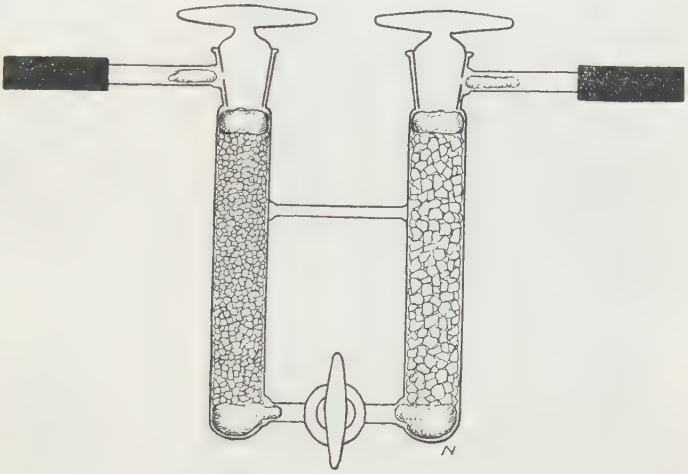


Abb. IV

Stelle des früheren Blasenzählers tritt. Das Rohr ist wesentlich größer dimensioniert und ist in den an die Kühlspirale anschließenden Schenkel mit Natronkalk, im zweiten Schenkel mit Chlorcalcium gefüllt. Die Füllungen werden oben und unten durch einen Wattebausch abgeschlossen. Um einen Feuchtigkeitsaustausch der beiden Präparate zu verhindern, sind die Schenkel des U-Rohres durch einen Glashahn getrennt, welcher geschlossen wird, sobald die Apparatur außer Betrieb kommt. Auch die oberen Öffnungen werden durch Glashähne verschlossen. Eine größere Bruchfestigkeit des Apparates wird durch den zwischen den Schenkeln eingeschmolzenen Glasstab erreicht. Das U-Rohr entzieht dem Sauerstoff das mitgeführte Kohlendioxyd und Wasser; erst nach 30 bis 40 Verbrennungen ist eine Neufüllung desselben erforderlich.

Der zweite Schenkel des U-Rohres schließt direkt an das Verbrennungsrohr an. Die Zufuhr des Sauerstoffes erfolgt durch ein seitlich angesetztes, bajonettförmiges Röhrchen, wie dies aus Abb. V. ersichtlich ist. Diese Anordnung hat

erstens den Vorteil, daß die ganze Zuleitungsapparatur in fester Stellung verbleibt, zweitens, daß bei Einführung des Schiffchens in das Verbrennungsrohr der Sauerstoff bei der Rohrmündung austritt und das Eindringen der Laboratoriumsluft hindert. Wer diese praktische, heute allgemein verwendete Art der Gaszufuhr als erster anwandte, konnte nicht in Erfahrung gebracht werden.

Die einzelnen Apparate der Zuleitungsapparatur und das Verbrennungsrohr schließen Glas an Glas aneinander und sind durch kurze Gummischläuche verbunden. Für die Verbindung des Gasometers mit dem Gasregulator dient ein einfacher Gummischlauch. Die gesamte Apparatur ist aus Abb. VI ersichtlich[9]).

Die Apparatur wurde auf ihr Funktionieren eingehend geprüft und hat sich ausgezeichnet bewährt. Der Gasstrom geht vollkommen gleichmäßig, die Blindversuche ergaben die praktische Gewichtskonstanz der Absorptionsapparate, gleichgültig, ob dabei 100, 200 oder 300 ccm Sauerstoff das Verbrennungsrohr passierten. Die Apparatur gestattet daher, Verbrennungen beliebig lange auszudehnen, ohne eine Erhöhung der Kohlenstoffwerte zu bedingen, ferner Verbrennungen mit Substanzeinwaagen unter 2 mg durchzuführen, wobei es hauptsächlich auf eine richtige Substanzeinwaage ankommt.

Das Verbrennungsrohr.

Das Verbrennungsrohr mit der PREGL'schen „Universalfüllung" hat neben seinen vielen Vorzügen den einen Nachteil, daß die Füllung fix ist und die Auswechslung einer Schichte nicht durchgeführt werden kann. Dieser Nachteil kommt vor allem in bezug auf die Bleisuperoxydschichte zur Geltung, bei welcher man keinen Anhaltspunkt hat, wann dieselbe verbraucht ist, bezw. wie lange man auf die Wirksamkeit des Präparates rechnen kann. Erst durch Fehlanalysen und die Bestätigung derselben durch Verbrennung von Testsubstanzen wird ersichtlich, daß das Bleisuperoxyd den Anforderungen nicht mehr entspricht.

Diese Schwierigkeiten zu umgehen, ist bei Anwendung der Universalfüllung nicht möglich. Die einzige Verbrennungsmethode, welche die Auswechslung des Bleisuperoxyds gestattet, ist die Methode nach DENNSTEDT[1]).

[9]) Die vorstehend beschriebene Apparatur kann durch die Firma Paul Haack in Wien, IX., bezogen werden. Für den Gasregulator und die Absorptionsapparate wurde der Musterschutz angemeldet.

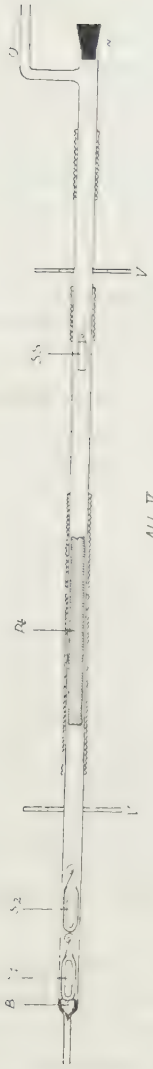


Abb. V.

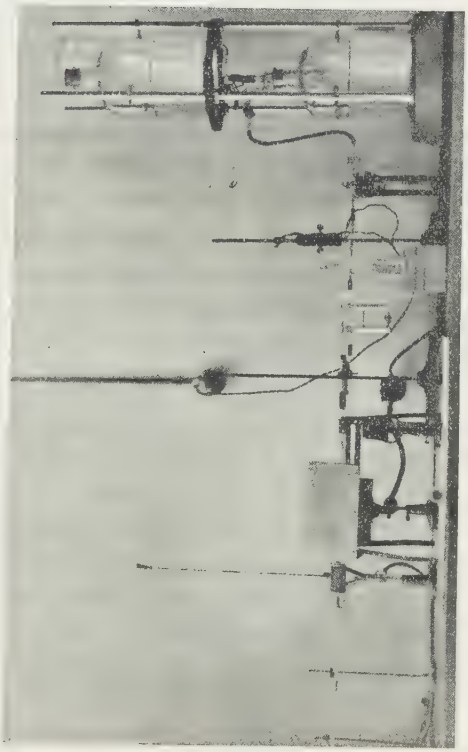


Abb. VI.

Die Durchführung der Mikro-Kohlenstoff-Wasserstoffbestimmung nach DENNSTEDT wurde bereits von KASIMIR FUNK[2]) versucht. Diese Mikroapparatur ist jedoch die direkte Kopie der Makroapparatur. Inwieweit die Anwendung eines geteilten Gasstromes und Einsatzrohres bei der kleinen Dimensionierung der Mikroverbrennungsröhre noch berechtigt ist, sei dahingestellt. Diese Einrichtung führt hier zu noch größerer Kompliziertheit und kann leicht neue Fehlerquellen bedingen. Im übrigen weist die Verbrennungsmethode nach DENNSTEDT Schwierigkeiten auf, die sich bei einer Übertragung in den Mikrostil noch erhöhen. Diese Verbrennungsmethode erfordert, daß der Sauerstoff immer im Überschuß gegenüber den Verbrennungsgasen vorhanden ist, anderseits doch eine gewisse Berührungsdauer der Verbrennungsgase mit dem Kontaktstern gewährleistet sein muß. Diese beiden Forderungen bilden einen Gegensatz, und es bedarf der Übung des Experimentators, die Dimensionierung des Gasstromes richtig zu treffen. Im allgemeinen lassen sich nach der DENNSTEDT-Methode alle Substanzen gut verbrennen, welche sich im Schiffchen zersetzen und deren Verbrennungsgase, mit Sauerstoff gemischt, den Kontaktstern passieren. Bei Substanzen, welche unzersetzt destillieren, sind dagegen Fehlresultate leicht möglich.

Die Übertragung der DENNSTEDT-Methode in die Mikroanalyse konnte nur dann Aussicht auf Erfolg haben, wenn sie unter günstigsten Bedingungen durchgeführt wird. In dieser Hinsicht wurden folgende Versuche gemacht:

Die in der Mikroanalyse verwendete Gasgeschwindigkeit von 4 ccm Sauerstoff pro Minute stellt, bei einer Verbrennungszeit von zehn Minuten, die zwei- bis fünffache Menge Sauerstoff dar, welche durchschnittlich für die Verbrennung von 3 bis 5 mg Substanz erforderlich ist. Obwohl diese Sauerstoffmenge als ausreichend bezeichnet werden kann, wurde, um die Bedingungen noch besser zu gestalten, in die Spitze des Verbrennungsrohres der bei der PREGL'schen „Universalfüllung" verwendete Bremspfropf[10]) eingefügt. (Abb. V, B.) Durch die Anwendung des Bremspfropfes wird ein Überdruck von Sauerstoff im Rohre erzielt, womit in dieser Hinsicht die günstigsten Bedingungen geschaffen sind.

Um eine möglichst lange Berührungsdauer der Verbrennungsgase mit dem Platinkontaktstern zu erzielen, wurde als Kontakt-

[10]) In die Schnabelspitze gibt man zunächst ein kleines Bäuschchen Tressensilber (als mechanische Stütze), dann 6 bis 10 mm ausgeglühten Goochtiegelasbest, preßt denselben kräftig zusammen und drückt schließlich wieder ein Bäuschchen Tressensilber oder ein Scheibchen feineres Kupferdrahtnetz darauf, um eine Lockerung zu verhindern.

stern ein 10 cm langes und 5 cm breites Platinblech (zu einer Spirale zusammengerollt) verwendet, welches mit dem üblichen Langbrenner geheizt wird. (Abb. V, Pt.) Da 4 ccm Gas im Mikroverbrennungsrohr ungefähr ein Volumen von 8 cm Länge ausfüllen, ist bei dieser Dimensionierung eine Berührungsdauer der Verbrennungsgase mit dem glühenden Kontaktstern von 60 bis 75 Sekunden geboten. Diese Bedingung allein müßte, abgesehen von der hohen katalytischen Wirkung des Platins, genügen, um jede Substanz zu zerstören und restlos zu Kohlendioxyd und Wasser zu oxydieren.

Versuche mit einem solchen Verbrennungsrohr haben gezeigt, daß die Leistungsfähigkeit desselben die LIEBIG'sche Verbrennungsmethode nicht nur erreicht, sondern bei weitem übertrifft. Sämtliche Substanzen, deren gleichmäßige Vergasung auf 8 bis 10 Minuten ausgedehnt wurde, haben richtige Analysenwerte ergeben, gleichgültig, ob es sich um Kohlenwasserstoffe handelt, wie Naphthalin oder Perylen, oder schwer zersetzliche Substanzen, wie Chlordinitrobenzol, Trichlordinitrobenzol, Dinitrophenylhydrazone u. a. m. Um die Leistungsfähigkeit der Rohrfüllung auf die Probe zu stellen, wurden bei einer Verbrennung 4 mg Naphthalin durch rasches Erhitzen innerhalb 1½ Minuten über den Stern gejagt. Ein Teil des Naphthalins destillierte unzersetzt über den Kontaktstern und schied sich an den kühleren Teilen des Rohres wieder ab. Die Wägung des Natronkalkrohres zeigte jedoch, daß in dieser kurzen Zeitspanne 67% der Substanz zu Kohlendioxyd oxydiert wurden. In einem zweiten Versuch, in welchem die gleiche Menge Naphthalin innerhalb drei Minuten verbrannt wurde, wurde die ganze Substanz zersetzt und 96% derselben zu Kohlendioxyd oxydiert.

Es ist klar, daß diese Versuchsergebnisse ganz und gar zugunsten der DENNSTEDT-Analyse entscheiden. Der Vorteil bei der Verbrennung nach LIEBIG liegt in der innigen Berührung der Gase mit dem drahtförmigen Kupferoxyd, wird jedoch durch den Umstand teilweise aufgehoben, daß die Berührungsdauer bei dem Minimum an Raum, welcher dem durchströmenden Gas zur Verfügung steht, eine ungemein kurze ist.

Bleisuperoxyd.

Die vorstehend beschriebene Rohrfüllung gestattete es, eingehende Untersuchungen über die Wirksamkeit des Bleisuperoxyds bei Verbrennung von stickstoff-, schwefel- oder halogenhaltigen Stoffen anzustellen. Bekanntlich werden bei der Verbrennung solcher Substanzen oft zu hohe Kohlenstoffwerte beobachtet, so daß es den Anschein hat, als ob die sauren Gase nur teilweise vom Bleisuperoxyd aufgenommen werden und zum Teil in das Natronkalkrohr gelangen. Diese Verhältnisse sind um so verwickelter, da es vorkommt, daß ein und dieselbe Rohrfüllung zunächst brauchbare Werte ergibt, indes zu einem späteren Zeitpunkt effektiv zu hohe Kohlenstoffwerte gefunden werden. Besonders bei Nitroverbindungen, zum Beispiel bei Dinitrophenylhydrazonen, werden oft Erhöhungen des Kohlenstoffgehaltes bis zu 1·5% beobachtet.

Zur Abhilfe dieses Fehlers wurden schon viele Vorschläge gemacht. Zum Beispiel: Verwendung größerer Schichten von Bleisuperoxyd, Verteilung desselben auf Asbest, Erniedrigung der Gasgeschwindigkeit auf 3 ccm pro Minute (längere Berührungsdauer), kleine Substanzeinwaagen usw. Die Berücksichtigung dieser Vorschläge kann eine Verbesserung der fehlerhaften Kohlenstoffwerte herbeiführen, eine Garantie ist dadurch keineswegs gegeben. Im übrigen widersprechen diese Vorschläge den Angaben DENNSTEDT's, nach welchen ein längeres Schiffchen mit Bleisuperoxyd genügt, um alle sauren Gase zurückzuhalten.

Zur Klarstellung dieser Verhältnisse wurden mehr als 30 Verbrennungen von reinstem Chlordinitrobenzol durchgeführt, wobei bei jeder Verbrennung die Absorptionsbedingungen abgeändert wurden. Das Ergebnis ist folgendes:

1. Der Übergang saurer Gase aus dem Verbrennungsrohr in die Absorptionsapparate (Verbrennung ohne Vorlage von Bleisuperoxyd) ist dadurch gekennzeichnet, daß sowohl das Natronkalkrohr als auch das Chlorcalciumrohr bedeutende fehlerhafte Gewichtszunahmen erfahren. Ein großer Teil der übergehenden Gase wird sonach schon im Chlorcalcium zurückgehalten. Dieser Tatbestand ist wichtig, da in der Praxis nur die Kohlenstoffwerte zu hoch gefunden werden.

2. Es ist gleichgültig, ob man viel Bleisuperoxyd vorlegt oder nur zwei kleine Mikroschiffchen mit demselben in das Verbrennungsrohr stellt; die Resultate sind dieselben. Dies bestätigt die

Angaben von DENNSTEDT und beweist gleichzeitig, daß das Absorptionsvermögen des Bleisuperoxydes für saure Gase ein sehr großes ist.

3. Nach Vorschrift DENNSTEDT's wird das Bleisuperoxyd in einem Porzellantiegel erhitzt, bis es durch Bildung von Mennige schmutzigrot geworden ist, und dann im Exsikkator abgekühlt. Dabei werden organische Verunreinigungen zerstört, außerdem enthält das Präparat infolge Abgang von Sauerstoff eine genügende Menge Mennige.

Die Versuche haben gezeigt, daß die Verwendung dieses Präparates tatsächlich zu richtigeren Kohlenstoffwerten führen als bei nicht vorbehandelten Präparaten. Das gebildete Mennige hat jedoch, wie sich weiter zeigte, mit der Absorption der sauren Gase nichts zu tun. Im Gegenteil. Entsteht beim Erhitzen des Bleisuperoxydes nur etwas zu viel Mennige, ist das Präparat vollkommen unbrauchbar und es kommt dann zum Übergang saurer Gase in die Absorptionsapparate (Zunahme von Wasserstoff und Kohlenstoff).

4. Die eigentliche Fehlerquelle, welche bei Verbrennung von stickstoff-, schwefel- und halogenhaltigen Stoffen erhöhte Kohlenstoffwerte bedingt, ist durch ganz andere Verhältnisse begründet: Das Bleisuperoxyd hat die Fähigkeit, bei Zimmertemperatur Kohlendioxyd aus der Luft aufzunehmen. Wird ein solches Präparat bei der Verbrennung vorgelegt, so werden die sauren Gase absorbiert und dafür Kohlendioxyd in Freiheit gesetzt. Man erhält daher bei den Analysen nur erhöhte Kohlenstoffwerte, dagegen keine erhöhten Wasserstoffwerte, was beim Übergang saurer Gase der Fall sein müßte. Bei der Vorbehandlung des Bleisuperoxydes nach DENNSTEDT wird in erster Linie die aufgenommene Kohlensäure ausgetrieben, was sich daraus ergibt, daß die nach PREGL mittels konzentrierter Salpetersäure vorbehandelten Präparate (welche frei von organischen Stoffen sind) das gleiche Verhalten zeigen. Die Verwendung des nach DENNSTEDT vorbehandelten Bleisuperoxydes in der Mikroanalyse ist nicht empfehlenswert, da es, abgesehen von seinem Mennigegehalt, welcher die Wirkung des Präparates beeinträchtigt, vermieden werden soll, daß das Präparat

vor der Verbrennung mit Außenluft in Berührung kommt. Die zweckdienliche Vorbehandlung des Bleisuperoxydes wird im folgenden Abschnitt beschrieben.

Die Durchführung der Mikro-Kohlenstoff-Wasserstoffbestimmung.

Verbrennungsrohr: Das Verbrennungsrohr mit dem seitlich angesetzten Röhrchen wird mit heißer Schwefelsäure behandelt, dann gründlich ausgewaschen und getrocknet. Hierauf wird der Bremspfropf, welcher die einzige fixe Füllung desselben vorstellt, in der früher beschriebenen Weise eingeführt. Das Rohr wird dann auf das Verbrennungsgestell gelegt und mit der Zuleitungsapparatur verbunden. Über das Rohr werden, wie Abb. V zeigt, fünf Drahtnetzrollen geschoben, wovon die ersten drei für den Langbrenner, die beiden letzten für den beweglichen Brenner bestimmt sind.

Diese Unterteilung hat den Zweck, daß man beim Einführen und Herausnehmen der Schiffchen und des Platinkontaktsternes sich an jeder Stelle des Rohres bequemen Einblick verschaffen kann. Von den beiden für den beweglichen Brenner bestimmten Drahtnetzrollen befindet sich eine vor und eine nach der Stütze V des Verbrennungsgestelles; dadurch erspart man das Überheben der Rollen beim Verbrennungsgestell und kann das Rohr in seiner Lage belassen. Wie aus Abb. VI ersichtlich, wird das Verbrennungsrohr unmittelbar neben dem bajonettförmigen Einleitungsröhrchen in eine Klemme gespannt. Das vordere Ende des Rohres liegt in der Hohlgranate wie bei der PREGL'schen Apparatur. Zwischen Hohlgranate und dem Langbrenner läßt man eine drei bis vier Finger breite Strecke frei.

Der Langbrenner wird in einem Abstand von ungefähr 4 cm unter das Verbrennungsrohr gestellt und so reguliert, daß die eben entleuchtete Flamme mit ihrem oberen Saum die Drahtnetzrollen berührt. Dies genügt vollkommen, um den Platinkontaktstern zum Glühen zu bringen; ein stärkeres Erhitzen ist schlecht, da es zu einer Durchbiegung des Verbrennungsrohres kommen kann, wodurch die Einführung und Entnahme der Schiffchen Schwierigkeiten bereitet.

Vorbereitung der Verbrennung: Man entfernt den Gummistopfen, welcher das Verbrennungsrohr verschließt, wischt die Mündung aus, führt den Platinkontaktstern ein und schließt wieder zu. Dann öffnet man die Hähne am U-Rohr, schließt das Kabel des Katalysatorröhrchens an die Stromleitung an und öffnet den Gasometer. Nun wird die Hohlgranate und der Langbrenner in Betrieb gesetzt und der Teil des Rohres, welcher zwischen Mündung und Platinkontaktstern liegt, einmal mit dem beweglichen Brenner ausgeglüht, wobei man ungefähr 6 cm nach dem Gummistopfen beginnt. Einige Minuten später kontrolliert man am Gasregulator die Gasgeschwindigkeit, korrigiert eventuell dieselbe. Für die Verbrennung von stickstoff-, schwefel- und

halogenfreien Substanzen kann, nachdem das Durchglühen mit dem beweglichen Brenner beendet ist und der Teil des Rohres sich wieder abgekühlt hat, mit dem Anschluß der Absorptionsapparate und Einführung des Substanzschiffchens begonnen werden.

Bei Verbrennung von stickstoff-, schwefel- und halogenhaltigen Stoffen werden in das Verbrennungsrohr, ehe man den Platinstern einführt, zwei kleine Schiffchen aus Glas (Abb. V, S. 1, S. 2) bis in den vordersten Teil des Rohres geschoben. Die Hohlgranate wurde vorher vom Rohre entfernt. Die Schiffchen sind zu drei Viertel mit Bleisuperoxyd gefüllt, welches nach der Vorschrift PREGL's gereinigt wurde und in getrockneter, pulverisierter Form in einer Vorratsflasche aufbewahrt wird. Dann führt man den Platinstern ein und heizt den Langbrenner an. Nachdem der reine Sauerstoff einige Minuten lang das Rohr durchströmt hat, schiebt man über das Rohrende, in welchem sich die Bleisuperoxydschiffchen befinden, eine kurze, einfache Drahtnetzrolle und erhitzt jedes Schiffchen für sich auf folgende Weise:

Man nimmt den beweglichen Brenner (Bunsenbrenner) und stellt die Flamme so ein, daß dieselbe eben entleuchtet ist und ihre Spitze 3 bis 4 cm über das Verbrennungsrohr hinausragt. Dann schiebt man die Drahtnetzrolle über das eine Schiffchen, stellt den Brenner darunter und erhitzt genau eine Minute. Nach Ablauf dieser Zeit schiebt man die Drahtnetzrolle über das zweite Schiffchen, erhitzt ebenfalls genau eine Minute und entfernt dann sofort Drahtnetzrolle und Brenner. Nun wird die angeheizte Hohlgranate wieder über das Rohr geschoben und auf das vorstehende Schnabelansatzrohr eine Asbestscheibe aufgesetzt (Wärmeschutz für die Schlauchverbindungen). Die Bedingungen für das Erhitzen der Bleisuperoxydschiffchen müssen genau eingehalten werden; sie sind so bemessen, daß das Präparat vollkommen frei von Kohlendioxyd ist, ohne daß Mennige gebildet wird, welches die Leistungsfähigkeit desselben herabsetzt.

Zwei Schiffchen mit Bleisuperoxyd reichen für die richtige Verbrennung von rund 12 mg Trichlordinitrobenzol; es können sonach bei größeren Substanzeinwaagen zwei, bei kleineren Substanzeinwaagen vier bis sechs Verbrennungen von stickstoff-, schwefel-

oder halogenhaltigen Stoffen in einer Serie ausgeführt werden. Nach Unterbrechung der Verbrennungen (Abkühlen des Rohres) ist eine Neufüllung des Schiffchens erforderlich.

Nach dem Erhitzen der Schiffchen wird, wie früher beschrieben, der vordere Teil des Rohres mit dem beweglichen Brenner ausgeglüht, womit alle Vorbereitungen für die Verbrennung getroffen sind.

Die Verbrennung: Zunächst werden die gewogenen Absorptionsapparate an das Verbrennungsrohr angeschlossen. Als Verbindung dienen ungefähr 2 cm lange Stücke imprägnierten Druckschlauches, wie er in ausgezeichneter Form und Qualität von der Firma Paul Haack in Wien geliefert wird. Die Verbindungsstücke werden (nach PREGL's Vorschrift) zunächst mit einem glyzerinierten und dann einem trockenen Wattebäuschchen ausgewischt. Man schiebt die Verbindungsstücke auf die beiden Ansatzröhren des Chlorcalciumrohres, öffnet die Hähne erst unmittelbar neben der Apparatur, schließt dann das Rohr an die Verbrennungsröhre an und legt den Heizbügel der Granate auf Das Natronkalkrohr wird ebenfalls unmittelbar vor dem Anschluß an das Chlorcalciumrohr geöffnet. Zweckmäßig legt man die Apparate so, daß die Verschlußstellen oben zu liegen kommen und leicht eingesehen werden können. Ist ein Apparat nicht richtig geöffnet oder sonst irgendein Fehler in der Apparatur, welcher den Gasstrom hemmt, so ist dies sofort daran erkenntlich, daß die Flüssigkeit im Gasregulator auf den Nullpunkt zurückgeht, da sich dann beiderseits gleicher Druck einstellt.

Die MARIOTT'sche Flasche wird nicht verwendet, da die Absorptionsapparate dem Sauerstoffstrome keinen nennenswerten Widerstand leisten.

Ist alles in Ordnung, wird das Rohr geöffnet, die Mündung ausgewischt und das Substanzschiffchen eingeführt. Vorsichtigerweise schiebt man das Substanzschiffchen nur so weit, daß es 7 bis 8 cm von der Flamme des Langbrenners entfernt ist.

Was die eigentliche Verbrennung der Substanz betrifft, so ist nur erforderlich, daß dieselbe innerhalb acht bis zehn Minuten gleichmäßig vergast wird[11]). Wenn diese Bedingung nur

[11]) In diese Zeitangabe ist nur die Vergasung an sich, nicht die Verbrennungsdauer, z. B. Destillieren und Tropfenbildung der Substanz, inbegriffen.

halbwegs eingehalten wird, ist eine Fehlanalyse fast ausgeschlossen. Wer keine Erfahrung in der Mikro-Kohlenstoff-Wasserstoffbestimmung besitzt, soll sich nicht an diese Zeit halten, sondern die Verbrennung ganz langsam und stufenweise durchführen. Es ist vollkommen belanglos, ob dieselbe auch zwanzig oder dreißig Minuten lang dauert.

Nach Beendigung der Verbrennung stellt man den beweglichen Brenner zurück (bis ungefähr 6 cm vor dem Gummistopfen) und glüht den Teil des Rohres nochmals in kurzen Abständen aus. Bei der PREGL'schen Apparatur war es erforderlich, nach Beendigung der Verbrennung 100 ccm Luft durchzuleiten, um das Wasser in die Absorptionsapparate zu spülen. Die vorliegende Apparatur stellt dem Wasserdampf kein Hemmnis entgegen, auch der Bremspfropfen wird rasch passiert. Es kann daher nach Beendigung der Verbrennung das Ausglühen auf sechs bis zehn Minuten beschränkt werden, wodurch sich eine Zeitersparnis ergibt. Ein geübter Analytiker wird für die Durchführung der Verbrennung rund fünfzehn Minuten brauchen.

Zur Abnahme der Absorptionsapparate vor der Apparatur wird zuerst der letzte freiliegende Hahn des Natronkalkrohres geschlossen, nach zehn Sekunden der vordere Hahn und nun der Apparat von der Schlauchverbindung abgezogen, wobei man den Apparat mit der einen Hand *am Ansatzrohr des Stopfens* erfaßt und ruhig anzieht, indes die zweite Hand die Schlauchverbindung hält. Dann schließt man den rückwärtigen und schließlich den vorderen Hahn des Chlorcalciumrohres und zieht den Apparat samt Gummistück vom Schnabel des Verbrennungsrohres ab. Man hält den Apparat wie bei Abwischen der Ansatzröhrchen mit den vier Fingern, drückt den Daumen auf den Stopfen und zieht die Gummistücke ab. Das Abwischen und Wägen wurde bereits früher besprochen.

Sollte es passieren, daß durch unvorsichtiges Hantieren ein Stopfen gelüftet wird, so muß der Apparat noch einmal an die Apparatur geschaltet werden, damit die eingedrungene Luft durch den Sauerstoff verdrängt wird. Ein Fehler wurde in der Regel nicht beobachtet.

Bei Verbrennung von stickstoff-, schwefel- und halogen*freien* Substanzen kann, nachdem das Schiffchen aus dem Rohr ent-

fernt ist, sogleich mit der nächsten Analyse begonnen werden; es lassen sich in einer Stunde bequem zwei Analysen durchführen.

Bei Verbrennung von stickstoff-, schwefel- oder halogenhaltigen Substanzen wird nach zwei bis sechs Verbrennungen (je nach Einwaage) der Langbrenner abgedreht, die Hohlgranate vom Verbrennungsrohr weggezogen und mit Hilfe eines an einem Glasstab angeschmolzenen Platindrahtes der Stern und die beiden Schiffchen mit Bleisuperoxyd langsam und vorsichtig aus dem heißen Rohre gezogen. Man entleert die Schiffchen, füllt sie mit frischem Bleisuperoxyd und beschickt damit das Rohr in der früher beschriebenen Art.

Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß vor der ersten Verbrennung, die man ausführt, die Absorptionsapparate (während des Ausglühens des Verbrennungsrohres) für fünf bis acht Minuten an das Rohr geschaltet werden. Erst dann werden die Apparate geschlossen, abgewischt und schließlich zur Wägung gebracht, wodurch einem Fehler (durch veränderten Luftdruck) vorgebeugt wird.

Nach Abschluß der Verbrennungen verschließt man den Schnabel des Verbrennungsrohres, setzt Gasflammen und Katalysatorröhrchen außer Betrieb und schließt zehn Minuten später die Hähne des U-Rohres. Die Hähne am Gasregulator, bezw. Gasometer bleiben geöffnet.

Analysen.

a) Versuche zur Prüfung der Leistungsfähigkeit der nach modifizierter DENNSTEDT-Methode durchgeführten Mikro-Kohlenstoff-Wasserstoffbestimmung:

3,762 mg Naphthalin innerhalb 1,5 Minuten vergast; gefunden: 8,870 mg CO_2. Umsatz: 68,2% der Einwaage.

4,595 mg Naphthalin innerhalb 3 Minuten vergast; gefunden: 15,130 mg CO_2. Umsatz: 96% der Einwaage.

b) Bei den nachstehend angeführten Analysen wurde die Verbrennung der Substanz innerhalb acht bis zwölf Minuten durchgeführt:

Naphthalin:

5,206 mg Substanz gaben 2,920 mg H_2O, 17,855 mg CO_2.
4,670 mg Substanz gaben 2,570 mg H_2O, 16,025 mg CO_2.
Berechnet für $C_{10}H_8$: 93,71% C, 6,29% H.
Gefunden: 93,54% C, 6,27% H.
93,58% C, 6,15% H.

Perylen:

3,690 mg Substanz gaben 1,544 mg H_2O, 12,880 mg CO_2.
3,482 mg Substanz gaben 1,470 mg H_2O, 12,140 mg CO_2.
Berechnet für $C_{20}H_{12}$: 95,21% C, 4,79% H.
Gefunden: 95,20% C, 4,68% H.
95,00% C, 4,72% H.

Trichlordinitrobenzol:

4,365 mg Substanz gaben 0,210 mg H_2O, 4,250 mg CO_2.
4,221 mg Substanz gaben 0,155 mg H_2O, 4,130 mg CO_2.
Berechnet für $C_6HO_4Cl_3N_2$: 26,53% C, 0,37% H.
Gefunden: 26,60% C, 0,54% H.
26,68% C, 0,41% H.

2,4-Dinitriphenylhydrazon des Formaldehyds:

3,868 mg Substanz gaben 1,000 mg H_2O, 5,690 mg CO_2.
4,102 mg Substanz gaben 1,010 mg H_2O, 5,980 mg CO_2.
Berechnet für $C_7H_6N_4O_4$: 39,98% C, 2,88% H.
Gefunden: 40,12% C, 2,89% H.
39,76% C, 2,75% H.

c) Verbrennungen mit kleinen Substanzeinwaagen:

Vanillin:

1,505 mg Substanz gaben 0,740 mg H_2O, 3,480 mg CO_2.
1,606 mg Substanz gaben 0,830 mg H_2O, 3,700 mg CO_2.
Berechnet für $C_8H_8O_3$: 63,13% C, 5,30% H.
Gefunden: 63,06% C, 5,50% H.
62,83% C, 5,78% H.

Veronal:

2,062 mg Substanz gaben 1,220 mg H_2O, 2,595 mg CO_2.
1,363 mg Substanz gaben 0,865 mg H_2O, 2,595 mg CO_2.
Berechnet für $C_8H_{12}O_3N_2$: 52,14% C, 6,57% H.
Gefunden: 52,24% C, 6,62% H.
51,92% C, 7,10% H.

Trichlordinitrobenzol:

1,447 mg Substanz gaben 0,105 mg H_2O, 1,400 mg CO_2.
1,275 mg Substanz gaben 0,090 mg H_2O, 1,240 mg CO_2.
Berechnet für $C_6HO_4Cl_3N_2$: 26,53% C, 0,37% H.
Gefunden: 26,39% C, 0,81% H.
26,52% C, 0,79% H.

Zusammenfassung.

1. Zur Vereinfachung der quantitativen Mikro-Kohlenstoff-Wasserstoffbestimmung wurden verschließbare Absorptions-

apparate (mit und ohne Stopfensicherung) gebaut, welche die erprobte Form der PREGL'schen Apparate aufweisen und die Durchführung der Verbrennung im Sauerstoffstrome allein ermöglichen.

2. Die Gaszuleitungsapparatur besteht aus einem Gasregulator, dem Katalysatorröhrchen von BÖCK-BEAUCOURT mit angeschmolzener Kühlspirale und einem vollkommen verschließbaren U-Rohr für Chlorcalcium und Natronkalk. Sie ermöglicht eine genaue Messung und ständige Kontrolle des Gasstromes, schaltet die diesbezüglichen Fehlerquellen von vornherein aus und führt den Gasstrom mit gleichmäßiger Geschwindigkeit in vollkommen reinem Zustande dem Verbrennungsrohre zu.

Die Apparatur ermöglicht Verbrennungen mit Substanzeinwaagen von 1,5 mg und fordert nur ein Minimum von Aufmerksamkeit und Erfahrung seitens des Experimentators.

3. Die ständige Rohrfüllung besteht nur aus einem kleinen Bremspfropfen im Schnabelstück des Rohres, die Verbrennung wird mittels Platinkontakt durchgeführt. Durch den Bremspfropfen wird ein Überdruck von Sauerstoff im Rohre hervorgerufen; durch die Dimensionierung des Platinkontaktes eine Berührungszeit der Verbrennungsgase mit dem glühenden Kontaktstern von 60 bis 75 Sekunden gewährleistet. Die Leistungsfähigkeit dieser Rohrfüllung ist der der Universalfüllung weit überlegen.

4. Bei Verbrennung von schwefel-, halogen- oder stickstoffhaltigen Substanzen werden zwei kleine Glasschiffchen mit Bleisuperoxyd vorgelegt, welches für zwei bis sechs Verbrennungen (je nach Größe der Einwaage) ausreicht. Über die Wirksamkeit und den Verlauf der Absorption saurer Gase durch das Bleisuperoxyd wurden eingehende Untersuchungen angestellt, die eigentliche Fehlerquelle ermittelt und durch entsprechende Vorbehandlung des Präparates die fehlerlose Verbrennung dieser Substanzen gewährleistet.

5. Da das etwas langwierige Austreiben von Wasser aus der Rohrfüllung in die Absorptionsapparate bei dieser Apparatur wegfällt, ist die Dauer der Analyse wesentlich gekürzt, so daß es ohne weiteres gelingt, innerhalb einer Stunde zwei Analysen durchzuführen.

Über die quantitative mikroanalytische Bestimmung des Stickstoffes (Dumas).

Von **A. Friedrich.**

Aus dem Institut für medizinische Chemie der Universität Wien.

Die quantitative Mikrostickstoffbestimmung (Dumas) nach PREGL wurde durch mehr als sechs Jahre mit ausgezeichnetem Erfolg angewandt. Die Methode funktionierte derart einwandfrei, daß selbst Anfänger die Bestimmung mit sehr gutem Erfolge durchführten. Während dieser ganzen Zeitspanne wurde immer ein und dasselbe Kupferoxyd angewendet, welches schon früher für diese Bestimmung verwendet wurde. Als sich der Vorrat allmählich erschöpfte und durch neues Material ergänzt werden mußte, zeigten sich Fehlanalysen, wie sie bis dahin noch nie beobachtet wurden. Sowohl aus diesem Umstande als auch nach den Ergebnissen der Versuche von BÖCK und BEAUCOURT[1]) blieb kein Zweifel, daß die hier aufgetretene Fehlerquelle durch das drahtförmige Kupferoxyd bedingt war.

Die genaue Durchmusterung des Materials zeigte, daß fast jedes Stück einen feinen kapillaren Kanal aufwies. In diesen Kapillaren befindet sich Luft, welche beim Ausspülen des Rohres mit Kohlendioxyd nur teilweise verdrängt wird, dagegen beim Glühen des Rohres vollkommen austritt und die erhöhten Stickstoffwerte bedingt. Es wurde zuerst versucht, aus massivem Kupferdraht drahtförmiges Kupferoxyd durch Glühen im Luftstrome darzustellen. Dieser Versuch führte zu keinem Ergebnis, da das gebildete Kupferoxyd sogleich wieder abblätterte.

Ein zweiter Versuch ging dahin, das käufliche, drahtförmige Kupferoxyd nach dem Ausglühen in einem Vakuumexsikkator zu evakuieren und dann das Vakuum wieder mit reinem Kohlendioxyd aufzufüllen. Dieses Verfahren führte tatsächlich zu positiven Erfolgen, war jedoch sehr umständlich.

Die Vorbehandlung des Kupferoxyds wurde schließlich dadurch vereinfacht, daß die Entlüftung desselben unmittelbar vor der Verbrennung im Verbrennungsrohr ausgeführt wurde. Zu diesem Zwecke wurde das für die Verbrennung vorbereitete Rohr mit einem

[1]) Mikrochemie, VII, 9 (1928).

größeren evakuierten Exsikkator verbunden und durch langsames Öffnen der Hahnspindel bei geschlossenem Kipp'schen Apparat ein Vakuum angesaugt. Dann wurde die Hahnspindel wieder geschlossen und der Hahn des Kipp'schen Apparats langsam geöffnet. Dieser Vorgang wurde dreimal nacheinander wiederholt. Die Verbindung der Hahnspindel mit dem Vakuumexsikkator wurde dann gelöst und das Azotometer angeschaltet. Nach kurzem Durchspülen mit Kohlendioxyd wurde auf das Vorhandensein von Mikroblasen geprüft und dann mit der Bestimmung begonnen.

Bei allen Verbrennungen, welche mit vorbehandeltem Kupferoxyd durchgeführt wurden, fielen nach Abzug von 2% des abgelesenen Stickstoffvolumens die Werte zu nieder aus. Besonders bei den Versuchen der Entlüftung des Verbrennungsrohres, unmittelbar vor der Verbrennung, kam diese Abweichung stark zur Geltung. Zufolge einer Reihe von Analysen reinster Testsubstanzen wäre der für die raumbeschränkende Wirkung der Lauge abzuziehende richtige Betrag 0,5 bis höchstens 1%.

Mit diesen Ergebnissen übereinstimmend ist die Beobachtung, daß bei Verbrennungen mit vorbehandeltem Kupferoxyd das Größerwerden der Mikroblasen beim Glühen des Rohres (ohne Substanzverbrennung) bei weitem nicht in dem Grade auftritt, als es früher der Fall war. Es besteht die Möglichkeit, daß bei den früheren Bestimmungen, durch den Abzug der 2% vom Gasvolumen, eine Kompensation für eine konstante, durch das Kupferoxyd bedingte Fehlerquelle gegeben war.

Der Kipp'sche Apparat.

Die Notwendigkeit, den Kipp'schen Apparat vor jeder Bestimmung von neuem zu entlüften, was einen raschen Verbrauch von Marmor und Salzsäure bedingte, legte es nahe, denselben so zu modifizieren, daß nur eine einmalige Entlüftung desselben nach der Neufüllung notwendig ist. Nach den bisherigen Beobachtungen hat man angenommen, daß der Hauptteil der im Kipp'schen Apparat befindlichen Luft aus der Salzsäure stammt, aus welcher dieselbe nach PREGL's Vorschrift durch Behandlung mit Marmor entfernt wird. Es wurde daher in erster Linie darauf gesehen, den Luftzutritt in die obere Kugel des Kipp'schen Apparats zu ver-

meiden. Diesbezügliche Versuche sind in PREGL's[2]) „Quantitative organische Mikroanalyse" beschrieben. Die Ergebnisse waren nach einer persönlichen Mitteilung PREGL's nicht zufriedenstellend.

Mit vorliegender Arbeit wurde versucht, durch eine automatische Regulierung der Kohlensäurezufuhr in die obere Kugel die Bedin-

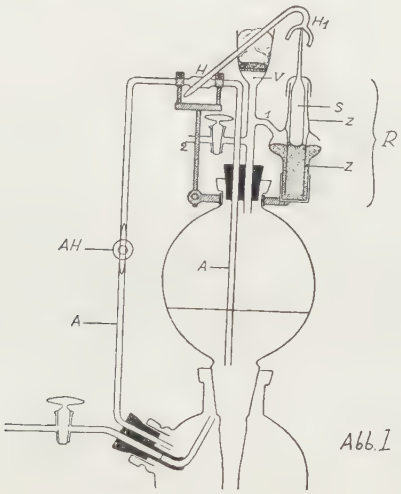


Abb. 1

gungen für einen ständig luftfreien Kipp'schen Apparat zu verbessern. Wie Abb. I zeigt, wurde die mittlere Kugel mit der oberen Kugel durch eine Glasröhre A verbunden, welche bis zum Schliffstück der oberen Kugel reicht, so daß die durchströmende Kohlensäure gleichzeitig die in der oberen Kugel befindliche Salzsäure entlüftet. Das Verbindungsrohr trägt oben den Hahn H, welcher durch eine verlängerte Spindel H_1 mit der Manometerflasche R in Verbindung steht. Die Manometerflasche besteht aus einem Gefäß mit eingebautem Zylinder Z, in welchem sich der Schwimmer S befindet und steht mit der oberen Kugel des Kipp'schen Apparats durch das Rohr l direkt in Verbindung. Senkt sich bei Entnahme von Gas in der oberen Kugel die Salzsäure, so tritt, da durch das Ventil V keine Luft nachströmen kann, ein Unterdruck auf. Dieser

[2]) FRITZ PREGL, „Organische Mikroanalyse, Verlag J. Springer, Berlin, 3. Auflage, 1930, S. 101.

überträgt sich auf das Manometer R, wodurch die äußere Quecksilberschichte gehoben wird. Das Manometer R ist so konstruiert, daß es eine Erhöhung des Quecksilberniveaus außen um ein Millimeter, im inneren Zylinder Z ein Sinken des Niveaus um das Zehnfache bedingt. Dadurch senkt sich der Schwimmer und es öffnet sich automatisch der Hahn H. Ist genug Kohlensäure in die obere Kugel nachgeströmt und der Unterdruck ausgeglichen, so stellt sich wieder das Quecksilber im Manometer auf gleiche Höhe ein, wodurch die Gaszufuhr gedrosselt ist.

Das Ventil V besteht aus einem Trichter mit Sinterplatte, auf welcher sich Quecksilber befindet. Um ein Verspritzen desselben bei Gasaustritt zu vermeiden, ist der obere Teil mit einem Wattebausch abgeschlossen. Der auf der Verbindungsröhre A befindliche Hahn A H, desgleichen der am Ventil V angebrachte Hahn 2 dienen bei der Neufüllung und Entlüftung des Apparats zum Abstellen, bezw. Inbetriebsetzung der automatischen Gasregulierung.

Nachdem die technischen Einzelheiten klaglos durchgeführt waren, wurde der Kipp'sche Apparat auf seine Leistungsfähigkeit geprüft. Es zeigte sich, daß schon nach wenigen Wochen die Mikroblasen wieder größer wurden und eine neuerliche Entlüftung des Kipp'schen Apparats erforderlich war. Die Ursache konnte nur im Marmor gelegen sein und es wurde versucht, denselben vor Einfüllung in den Kipp'schen Apparat von der eingeschlossenen Luft zu befreien. Am zweckmäßigsten gelingt dies in der Weise, daß man den Marmor in eine Saugflasche bringt, welche oben durch einen Gummistopfen verschlossen ist. Der Gummistopfen ist in der Mitte durchbohrt und trägt das Ableitungsrohr eines Tropftrichters. Man evakuiert nun bei geschlossenem Tropftrichter und läßt, sobald das höchste Vakuum erreicht ist, ausgekochtes destilliertes Wasser langsam zutropfen, bis der Marmor 4 bis 5 cm mit Wasser überschichtet ist. Dann läßt man langsam Luft in die Saugflasche strömen und drückt auf diese Weise das Wasser in die kapillaren Zwischenräume des Marmors.

Nach Beschickung des Kipp'schen Apparats mit solchem Marmor zeigte sich, daß die Luftfreiheit des Kipp'schen Apparats bedeutend länger anhielt als mit dem nicht vorbehandelten Marmor. Erst als die Marmorstücke auf ein Drittel ihrer ursprünglichen Größe zurückgegangen waren, wurden wieder größere Mikroblasen

beobachtet. In einem weiteren Versuche wurde der für den Kipp'schen Apparat bestimmte Marmor auf Haselnußgröße zerschlagen, dann wie vorstehend beschrieben evakuiert, und in den Kipp'schen Apparat eingeführt. Bei dieser Anordnung konnte nach einmaliger gründlicher Entlüftung des Kipp'schen Apparats derselbe bis zum völligen Verbrauch des Marmors verwendet werden, ohne daß eine Vergrößerung der Mikroblasen eintrat.

Das Verbindungsstück.

Das zwischen Verbrennungsrohr und Azotometer befindliche Verbindungsstück trägt einen Hahn mit angefeilter Bohrung (Feinregulierung), welcher zur genauen Einstellung der Gasgeschwindigkeit dient. Es kann nun leicht vorkommen, daß aus dem Verbrennungsrohr Wasserdampf in die Hahnspindel kommt, sich dort kondensiert und auf diese Weise den Gasdurchgang im Hahn hindert. In diesem Falle ist es erforderlich, den Hahn weiter zu öffnen, um die vorgeschriebene Gasgeschwindigkeit zu erreichen. Nach einiger Zeit dunstet das Wassertröpfchen wieder ab und gibt den Gaskanal frei, wodurch plötzlich ein rascherer Gasstrom auftritt. Um dies zu vermeiden, wurde eine Verbesserung der Hahnspindel versucht, welche sich als sehr praktisch erwies.

Wie Abb. II zeigt, ist der obere Teil des Spindelstückes etwas erweitert und trägt das Schliffstück S, in welches ein hohler

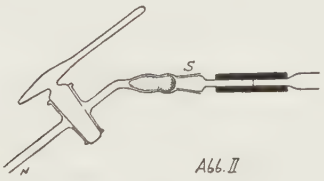


Abb. II

Stopfen eingeschliffen ist, bezw. mit Krönig'schem Glaskitt eingekittet wird. Die bauchige Erweiterung ist mit Watte gefüllt und hält das aus dem Verbrennungsrohr kommende Wasser zurück. Das Ansatzröhrchen des Schliffstopfens ist gleich dimensioniert wie das Ansatzröhrchen des Verbrennungsrohres, wodurch die beiden Teile bequem und dicht auseinander geschlossen werden können.

Über den Verteilungszustand gelöster Stoffe in extremer Verdünnung.

Von **Otto Werner.**

Kaiser-Wilhelm-Institut für Chemie, chemisch-radioaktive Abteilung.

Unsere Kenntnis von dem Verteilungszustand extrem geringer Substanzmengen in Lösung ist nur gering. Unter extrem geringen Substanzmengen sollen hier solche Mengen verstanden werden, deren Nachweisbarkeit mit den gewöhnlichen Hilfsmitteln der analytischen Chemie nicht mehr möglich ist. Wir müssen also schon sehr verfeinerte Methoden zu Hilfe nehmen, wenn wir irgend etwas darüber aussagen wollen: eine solche Methode ist die, die sich auf der Verwendung der radioaktiven Indikatoren aufbaut. Statt der gewöhnlichen inaktiven Elemente verwendet man ihre radioaktiven Isotopen. Wir haben auf diesem Wege das Verhalten von Blei und Wismutsalzen in extremer Verdünnung studiert, da von ihnen sowie von Poloniumsalzen bereits seit längerer Zeit bekannt war, daß sie sich in Lösung so verhalten, als ob sie nicht ional oder molekulardispers verteilt sind, sondern als ob sie sich vielmehr in einer Art von kolloidem Zustande befinden. Sie bleiben sehr leicht an Gefäßwandungen hängen, diffundieren nicht durch Membran und dergleichen.

Es besteht nun eine gewisse Meinungsverschiedenheit darüber, wie dies Verhalten zu erklären sei. Einerseits wird diese Kolloidbildung mit der Radioaktivität der betreffenden Atomarten in Verbindung gebracht; anderseits wird versucht, von dem chemischen Typus des Elements her diese Erscheinung zu verstehen. Und schließlich wird die Meinung vertreten, daß es sich bei dem ganzen Vorgang gar nicht um eine Kolloidbildung handelt, sondern daß er als ein Adsorptionsphänomen aufzufassen sei.

Wir werden versuchen, im folgenden den Nachweis zu erbringen, daß wir es tatsächlich mit einem Adsorptionsvorgang zu tun haben, und daß von diesem Standpunkte aus sich alle beobachteten Erscheinungen erklären lassen.

Eine sehr lehrreiche Methode zum Nachweis dieser Stoffe wurde vor einigen Jahren von C. Chamié[1]) angewendet. Im Anschluß

[1]) C. Chamié, Journ. d. Physique et le Radium, **10**, 44 (1929).

daran wurde nach dieser Methode das System ThB—ThC, das heißt radioaktives Blei und sein Folgeprodukt, das radioaktive Wismut, untersucht[1a]). Das Verfahren ist sehr einfach: Man bringt auf eine photographische Platte, die durch eine sehr dünne Glimmerschicht vor der direkten Einwirkung der Flüssigkeit geschützt ist, einen Tropfen der zu untersuchenden Lösung und entwickelt die Platten nach einiger Zeit.

Die Platte ist nicht, wie man erwarten sollte, homogen geschwärzt, sondern die radioaktive Materie erscheint in größeren Agglomeraten angehäuft.

Es erhebt sich hier die Frage, ob dies Verhalten für alle radioaktiven Atomarten charakteristisch ist, oder ob es nur an bestimmte Elemente gebunden ist, bezw. ob es sich aus ihrem sonstigen chemischen Verhalten irgendwie ableiten läßt. Es konnte von uns (l. c.) sowie später von Blau und Rona[2]) in Wien nach der genannten Methode gezeigt werden, daß das Auftreten der Gruppenbildung in wäßriger Lösung wesentlich nur bei Bildung schwerlöslicher Verbindungen zu beobachten ist. Leichtlösliche Salze, wie z. B. Radiumbromid und die Halogenide des ihm isotopen ThX, dagegen zeigen eine homogene Verteilung der radioaktiven Materie in der Lösung. Bei dem radioaktiven Wismut gelingt es durch Überführung des schwerlöslichen Hydrolyseprodukts in leichtlösliche Komplexe, oder durch Zurückdrängung der Hydrolyse durch Säurezusatz, die Gruppenbildung zum Verschwinden zu bringen.

Die photographische Nachweismethode ist natürlich rein qualitativ und gestattet nur einen oberflächlichen Einblick in die wahre Natur der Erscheinungen. Hier setzt die bereits von Harrington[3]) sowie von C. Chamié[4]) verwendete zweite Methode ein: die Zentrifugiermethode. Schon Lachs und Wertenstein[5]) beobachteten 1922 in Poloniumlösungen ein Auftreten von Diskontinuitäten hinsichtlich der Verteilung der Aktivitäten, derart, daß beim längeren Stehen eine Zunahme der Aktivität in den Bodenschichten

[1a]) Vgl. O. Hahn u. O. Werner, Naturwissenschaften, **17**, 961 (1929).

[2]) M. Blau und E. Rona, Wien. Ber., Abt. IIa, **139**, 275 (1930).

[3]) E. L. Harrington, Phil. Mag., **6**, 683 (1928). Siehe auch Harrington und Gratias, Phil. Mag., **11**, 285 (1931).

[4]) C. Chamié und M. Guillot, C. R., **190**, 1187 (1930).

[5]) H. Lachs und M. Wertenstein, Physikal. Ztschr., **23**, 318 (1922).

ihrer Gefäße eintrat, ähnlich wie unter der Einwirkung der Schwerkraft, die schwereren Teilchen einer Suspension sich allmählich zu Boden setzen.

Durch die Zentrifugiermethode wird eine vieltausendfache Verstärkung der Schwerkraftwirkung erzielt, und damit die zur Phasentrennung notwendige Zeit wesentlich reduziert. Durch Messung der Aktivität der abzentrifugierten Menge und Vergleich mit der Gesamtaktivität gelingt es, die prozentual vorhandene Menge an „Radiokolloid" festzustellen.

Schon der Absitzeffekt und die Möglichkeit, durch Zentrifugieren eine Phasentrennung zu erzielen, zeigten, daß die Teilchen einen wesentlich größeren Durchmesser haben müssen als Einzelatome oder Ionen oder Molekeln. LACHS und WERTENSTEIN (l. c.) berechneten aus Diffusionsmessungen mit Hilfe der STOKES'schen Formel Teilchenradien von der Größenordnung 10^{-6} cm. Nun reichen aber die vorhandenen absoluten Gewichtsmengen an radioaktiver Substanz keineswegs aus, um die Bildung derartig großer Teilchen zu ermöglichen.

Auch eine Betrachtung der Löslichkeitsverhältnisse der in Frage kommenden schwerlöslichen Verbindungen zeigt, daß die vorhandenen Gewichtsmengen keineswegs zur Überschreitung des Löslichkeitsproduktes ausreichen. Durch Zusatz von OH-Ionen kann sogar noch eine besonders starke Vermehrung des beobachteten Effektes erzielt werden. Doch hat schon PANETH[6]) darauf hingewiesen, daß die OH-Ionenkonzentration verdünnter Ammoniaklösungen nicht ausreicht, um das Löslichkeitsprodukt des $Pb(OH)_2$ zu überschreiten, da die bei derartigen Versuchen vorhandene radioaktive Bleimenge hierfür viel zu gering ist. Das Löslichkeitsprodukt des $Pb(OH)_2$ ist $1{,}25 \times 10^{-10}$. Bei einer OH-Ionenmenge von der Größenordnung 10^{-3} Mole pro Liter wäre eine Bleimenge von der Größenordnung 10^{-4} Mole pro Liter notwendig, um das Löslichkeitsprodukt zu erreichen. Die selbst in verhältnismäßig stark aktiven ThB-Lösungen vorhandene Bleimenge beträgt aber nur etwa den 10^{-8}-Teil, das heißt etwa 10^{-12} bis 10^{-13} Mole pro Liter. An diesen Überlegungen ändert sich auch nicht viel, wenn man statt mit vollständiger Dissoziation in drei Ionen nur mit unvollständiger Dissoziation in zwei Ionen rechnet.

[6]) F. PANETH, Wien. Ber., **122**, 1649 (1913).

Das Löslichkeitsprodukt von $Bi(OH)_3$ wurde kürzlich von BAYERLE[7]) zu $4{,}3 \times 10^{-31}$ bestimmt. Die in neutralen Lösungen zur Erreichung des Löslichkeitsproduktes (unter Voraussetzung vollständiger Dissoziation) notwendige ThC- (Wismut-) Menge müßte etwa 10^{-10} Mole pro Liter betragen, während tatsächlich nur etwa 10^{-13} bis 10^{-14} Mole pro Liter vorhanden sind. Noch unwahrscheinlicher wird die Überschreitung des Löslichkeitsproduktes natürlich in sauren Lösungen. In schwach alkalischen Lösungen dagegen können wir mit dem Vorhandensein von molekularem, undissoziiertem $Bi(OH)_3$ rechnen, selbst bei so geringen Substanzmengen wie den eben genannten.

Die vorstehenden Ausführungen zeigen, daß die vorhandenen Gewichtsmengen an radioaktiver Substanz im allgemeinen nicht ausreichen, um die Bildung wahrer Kolloide in wäßriger Lösung zu ermöglichen. Wir müssen uns also nach anderen Faktoren umsehen, die die Entstehung so großer Teilchen erklären. Es liegt nahe, mit ZSIGMONDY[8]) den Effekt auf eine Adsorptionserscheinung zurückzuführen. Die wäßrigen Lösungen enthalten immer Spuren von kolloider Kieselsäure, Staub, sowie von Eisenhydroxyd, die geeignet sind, als Träger oder Adsorptionszentren für die radioaktiven Ionen zu dienen. Es sei in diesem Zusammenhang auf eine Beobachtung von JEDRZEJOWSKI[9]) hingewiesen, der beobachtete, daß radioaktive Poloniumlösungen auf äußerst reinen, frisch gespaltenen Glimmeroberflächen nicht die Erscheinung der Gruppenbildung zeigen.

Es wurde versucht, den Beweis für die Bedeutung von Verunreinigungen für den vorliegenden Effekt nach zwei verschiedenen Methoden zu erbringen.

1. Das für die Herstellung der Lösungen verwendete, mehrfach destillierte Wasser wurde durch Zentrifugieren noch weiter gereinigt; eine Vergleichslösung der radioaktiven Substanz wurde dann mit gewöhnlichem destilliertem Wasser hergestellt. Es konnte zwar nicht erwartet werden, daß auf diesem Wege die Entstehung von Gruppen überhaupt vermieden werden würde, da es ja bekannt ist, mit welchen Schwierigkeiten die Herstellung eines

[7]) BAYERLE, Rec. Trav. chim., **44**, 518 (1925).
[8]) ZSIGMONDY, Kolloidztschr., **13**, 304 (1913).
[9]) JEDRZEJOWSKI, C. R., **188**, 1043 (1929).

optisch wirklich leeren Wassers verknüpft ist. Immerhin dürfte jedoch eine merkbare Verminderung der abzentrifugierbaren Mengen für die Richtigkeit der Theorie der Adsorptionszentren sprechen. Die folgende Tabelle gibt einige der erhaltenen Resultate wieder.

Tabelle 1.

ThB (Blei)		ThC (Wismut)	
nicht gereinigt	gereinigt	nicht gereinigt	gereinigt
37,9%	15,6%	87,6%	30,5%
36,0%	36,4%	73,0%	68,7%
28,3%	22,1%	64,0%	57,9%
36,7%	16,0%	84,5%	37,9%

2. Die zweite Methode der Reinigung beruht darauf, daß die mit einer geringen Flüssigkeitsmenge hergestellte Lösung durch ein Membranfilter filtriert und in zwei Portionen geteilt wird. Von diesen wird die eine Portion mit gewöhnlichem destilliertem Wasser, die andere Portion mit ebenfalls ultrafiltriertem Wasser verdünnt und beide Lösungen sodann zentrifugiert.

Die folgende Tabelle enthält wieder die Resultate.

Tabelle 2.

ThB (Blei)		ThC (Wismut)	
nicht filtriert	filtriert	nicht filtriert	filtriert
59,4%	28,0%	51,7%	49,7%
63,0%	28,1%	54,7%	40,9%
49,3%	19,5%	48,0%	16,0%
56,8%	23,1%	53,1%	53,6%

Die vorstehenden beiden Tabellen dürften wohl eindeutig den Beweis erbringen, daß die Anwesenheit von Verunreinigungen für die Entstehung der Radiokolloide notwendig ist, und daß es sich bei dem ganzen Vorgang wesentlich um eine Adsorptionserscheinung handelt.

Die folgenden Versuche behandeln den Einfluß zugesetzter Säuren und Basen. Bereits die qualitativen Versuche nach der photographischen Methode hatten gezeigt, daß es gelingt, durch Zusatz geeigneter Elektrolyte die Gruppenbildung zum Verschwinden zu bringen. Der Nachteil dieser Methode in ihrer Anwendung auf zusammengesetzte Systeme, wie ThB, ThC, liegt aber darin, daß man zwar eine mehr oder weniger starke Gruppen-

bildung beobachten kann, daß man aber nicht in der Lage ist anzugeben, bis zu welchem Grade sich der eine oder andere Anteil des Systems an der „Kolloidbildung" beteiligt. Hier setzt wiederum die Zentrifugiermethode ein, die es ermöglicht, auch, in zusammengesetzten Systemen quantitativ elektroskopisch messend, den Einfluß der verschiedenen Reagenzien auf den einen oder den anderen Bestandteil zu untersuchen.

In den folgenden Kurvenbildern ist die Abhängigkeit der abzentrifugierten Mengen Blei und Wismut von der Konzentration des zugesetzten Elektrolyten eingezeichnet. Die Abszisse enthält die negativen Exponenten der Konzentration, die Ordinate die abzentrifugierte Menge in Prozenten. Die ausgezogenen Kurven beziehen sich auf das ThC, das heißt auf das radioaktive Wismut, die gestrichelten Kurven beziehen sich auf das radioaktive Blei.

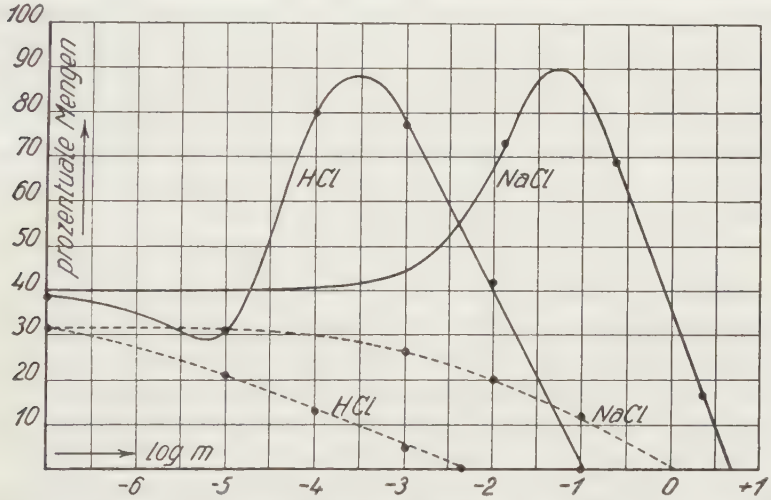


Fig. 1. Änderung der abzentrifugierbaren Mengen von ThB (Blei) und ThC (Wismut) mit der Elektrolytkonzentration.

Man erkennt auf den ersten Blick, daß Blei und Wismut sich den gleichen Reagenzien gegenüber völlig verschieden verhalten. Während die Menge des abzentrifugierten Bleies mit steigender Konzentration, und zwar nahezu linear abnimmt, durchläuft die Kurve des Wismuts ein scharf ausgeprägtes Maximum. Die Erklärung für dieses Verhalten scheint zunächst nicht ganz einfach. Wir betrachten diesen Vorgang als ein Adsorptionsphänomen und erinnern uns ferner daran, daß auch schon früher

von Godlewski[10]), von v. Hevesy[11]) und von Paneth[12]) das radioaktive Wismut und das Polonium als sogenannte Zwitterelemente angesehen worden sind, das heißt als Elemente, die sowohl als Anionen als auch als Kationen in derselben Lösung vorhanden sein können. Wir haben es also in der Lösung mit folgenden Faktoren zu tun: 1. Es sind eine Anzahl Träger- oder Adsorptionszentren vorhanden, 2. das radioaktive Blei liegt aller Wahrscheinlichkeit als Kation vor, 3. das radioaktive Wismut dagegen vermag sowohl als Kation als auch als Anion zu fungieren.

In völlig neutraler Lösung werden beide radioaktive Ionenarten, wie vielfach beobachtet, in annähernd gleicher Menge adsorbiert. Der Säurezusatz bewirkt nun aber eine bevorzugte Adsorption von H-Ionen an den Trägersubstanzen, die sich ihrerseits damit positiv aufladen und nunmehr in die Lage versetzt werden, bevorzugt Wismutanionen zu adsorbieren, während die Bleikationen desorbiert werden. Die Adsorptionskurve für das Wismut durchläuft ein Maximum, da mit steigender Säurekonzentration erstens unter Bildung sehr leicht löslicher Wismutverbindungen eine Umwandlung von Wismutanionen in Wismutkationen stattfindet, und da zweitens mit einer teilweisen Auflösung der Trägersubstanzen unter dem Einfluß der Säure zu rechnen ist.

Wir haben als aus dem Vorstehenden in Bestätigung früherer Ergebnisse den Schluß zu ziehen, daß das radioaktive Wismut in wässeriger Lösung großenteils als Anion vorliegt, das Blei dagegen als Kation, solange die Elektrolytkonzentration nicht so groß wird, daß unter Zerstörung der Absorptionsverbindung eine sekundäre Reaktion des Elektrolyten mit den radioaktiven Metallionen eintritt.

Prinzipiell ähnlich ist der Kurvenverlauf bei Zusatz von NaCl, nur ist das Maximum nach höheren Konzentrationen hin verschoben.

Wirkten die Wasserstoffionen positiv aufladend auf die Trägersubstanzen ein, so ist bei Zusatz von Hydroxylionen mit einer negativen Beladung der Trägersubstanzen und damit mit einer Umkehrung der beobachteten Erscheinungen zu rechnen. Die fol-

[10]) T. Godlewski, Kolloidztschr., **14**, 229 (1914).
[11]) v. Hevesy, Wien. Ber., **127**, 1788 (1918).
[12]) F. Paneth, Ztschr. f. Elektrochem., **31**, 572 (1925).

gende Tabelle enthält die bei Zusatz von Ammoniak erhaltenen Resultate.

Tabelle 3.

Einwirkung von NH_4OH

	ohne Zusatz	$^1/_{100}$ n	$^1/_{10}$ n	$^1/_1$ n
ThB (Blei) . . .	23,7	60,3	91,2	89,2
ThC (Wismut) . .	15,7	54,5	83,5	76,8

Für das Blei ist in der Tat entsprechend unseren Erwartungen eine starke Zunahme der abzentrifugierten Mengen mit zunehmender Ammoniakkonzentration zu beobachten. Das Wismut dagegen sollte eine Abnahme mit zunehmender negativer Beladung der Trägersubstanzen ergeben. In Wirklichkeit aber erhalten wir ebenfalls eine Zunahme. Hier muß nochmals daran erinnert werden, daß das Löslichkeitsprodukt des $Bi(OH)_3$ äußerst klein und von der Größenordnung 10^{-31} ist. Eine geringe Vermehrung der OH-Ionenkonzentration hat hierbei schon eine Überschreitung des Löslichkeitsproduktes zur Folge und bewirkt die Bildung von festem molekularen $Bi(OH)_3$, für welches, wie für viele hydroxylhaltige Kolloide, die Annahme eines positiven Ladungszustandes durchaus statthaft ist. Es ergibt sich daraus also, daß es keineswegs gleichgültig ist, ob das Wismut in neutraler, bezw. schwachsaurer Lösung oder aber in alkalischer Lösung vorliegt.

Zur weiteren Prüfung unserer Vorstellung von dem verschiedenen Ladungszustand des Bleies und des Wismuts in wässeriger Lösung wurden noch einige Versuche mit mehrwertigen Anionen und mehrwertigen Kationen unternommen. Mehrwertige Kationen bewirken positive Aufladung der Trägersubstanzen, mehrwertige Anionen eine negative Aufladung. Demnach müßten also mehrwertige Kationen einen ähnlichen Effekt haben wie H-Ionen, während die mehrwertigen Anionen eine Umkehrung hinsichtlich der Adsorptionsverhältnisse des Bleies und des Wismuts bewirken müssen. Die folgenden Tabellen beweisen die Richtigkeit unserer Voraussagen.

Tabelle 4.

Einwirkung von $La(NO_3)_3$

	ohne Zusatz	$^1/_{10\,000}$ n	$^1/_{1000}$ n	$^1/_{100}$ n
ThB (Blei) . . .	42,1	16,4	3,7	—
ThC (Wismut) .	41,5	82,0	93,0	87,3

Tabelle 5.

Einwirkung von Natriumzitrat

	ohne Zusatz	$^1/_{100\,0000}$ n	$^1/_{10\,000}$ n	$^1/_{1000}$ n	$^1/_{100}$ n
ThB (Blei). .	55,5	53,2	38,7	9,1	6,4
ThC (Wismut)	70,4	71,1	34,7	6,4	4,0

Zu der letzten Tabelle ist noch zu bemerken, daß zwar das ThC (Wismut) die erwartete Abnahme zeigt, während das ThB (Blei) eigentlich eine Zunahme hätte ergeben sollen. Tatsächlich findet aber auch hier eine Abnahme statt, die sich wohl mit der Bildung eines leicht löslichen komplexen Bleizitrats erklären lassen dürfte, welches das Blei als Anion enthält.

Zusammenfassung.

Die vorstehend geschilderten Versuche haben ergeben:

1. Das radioaktive Blei und Wismut in äußerster Verdünnung sind in wässeriger Lösung scheinbar nicht ional verteilt, wie man ihrer geringen Konzentration entsprechend erwarten sollte, sondern sie erscheinen vielmehr zu größeren Komplexen zusammengeballt.

2. Diese Gruppenbildung ist ein Adsorptionsphänomen; die radioaktiven Ionen werden an zufällig vorhandenen festen Verunreinigungen der Lösungen adsorbiert und täuschen damit Kolloidcharakter vor.

3. Versuche über den Einfluß von Elektrolytzusätzen lassen beim radioaktiven Blei und Wismut hinsichtlich ihres Ladungszustandes in der wässerigen Lösung ein antagonistisches Verhalten erkennen, derart, daß das Blei als Kation, das Wismut dagegen hauptsächlich als Anion auftritt.

Es wird die Bedeutung des Ladungszustandes der Trägersubstanz für das Zustandekommen der beobachteten Erscheinung hervorgehoben, demgegenüber die Schwerlöslichkeit eventuell entstehender Verbindungen erst in zweiter Linie eine Rolle spielt.

4. Die verwickelten Erscheinungen im Verhalten der Radiokolloide erscheinen durch die Ergebnisse unter Punkt 2 und 3 weitgehend geklärt.

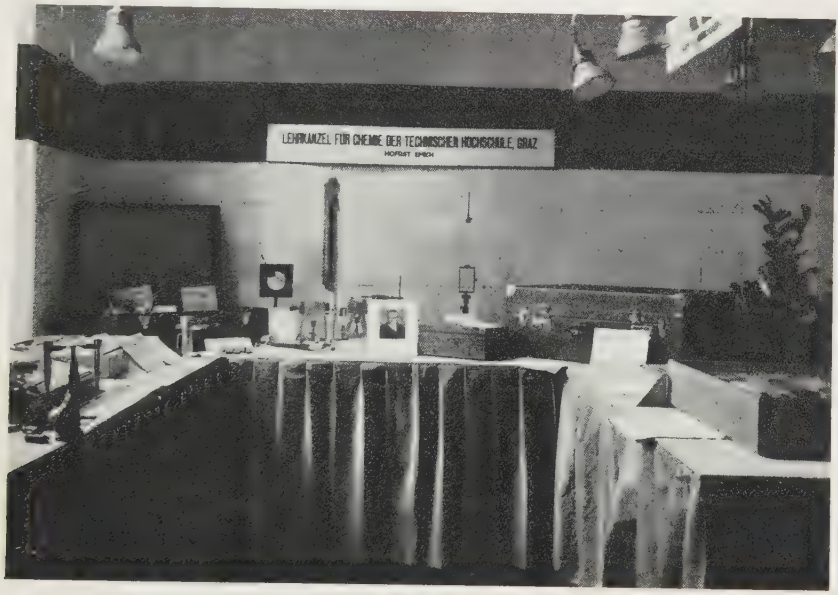
DIE MIKROCHEMIE-AUSSTELLUNG,

welche im I. Anatomischen Institut der Universität (Prof. Dr. J. TANDLER) stattgefunden hat, wurde vom Verleger der Zeitschrift MIKROCHEMIE, EMIL HAIM, zusammen mit der Firma PAUL HAACK, Glasbläserei, veranstaltet, denen die Herren Dozenten Dr. F. FEIGL und Dr. R. STREBINGER als wissenschaftliche Berater

zur Seite standen. Am 22. Mai d. J. hat in den Räumen der Ausstellung eine Pressekonferenz und Führung stattgefunden, bei der Prof. Dr. W. J. MÜLLER sowie die Dozenten Dr. STREBINGER und Dr. FEIGL Ansprachen hielten. Die nun eröffnete Mikrochemie-Ausstellung verblieb, da sich für dieselbe außerordentliches Interesse kundgab, bis zum 4. Juni für Besucher zugänglich, die sich in überaus großer Zahl eingefunden hatten. Im Zusammenhang mit der Ausstellung fanden auch Vorführungen über be-

OPTISCHE WERKE
C. REICHERT
MIKROSKOPE
C. REICHERT
WIEN

stimmte mikrochemische Methoden in der spektroskopischen Abteilung des II. Physikalischen Universitätsinstitutes (Prof. Dr. HASCHEK) statt. Bei diesen wurden durch Oberst i. R. M. HAITINGER Versuche mit dem Fluoreszenzmikroskop, von den Assistenten Dr. H. ALBER und Dr. E. SCHALLY des Hofrates EMICH, Graz, Versuche mit dem *Schlierenmikroskop* und *Elektrolysen am Objektträger*, von Prof. H. LIEB, Graz, Apparate zur *nassen Verbrennung* und schließlich von P. KRUMHOLZ *Tüpfelreaktionen* vorgeführt.



An der Ausstellung haben sich zahlreiche namhafte Firmen des In- und Auslandes mit bewährten Behelfen für mikrochemische Arbeiten beteiligt. Ganz besondere Beachtung fand der Umstand, daß auch folgende Institute für die Ausstellung Apparaturen zur Verfügung gestellt haben:

Laboratorium für allgemeine Chemie an der Technischen Hochschule Graz (Prof. Dr. F. EMICH).

Institut für medizinische Chemie der Universität Graz (Prof. PREGL †, Vorstand Prof. H. LIEB).

II. Chemisches Universitätsinstitut Wien (Prof. Dr. E. Späth).

Institut für medizinische Chemie der Universität Wien (Prof. Dr. O. Fürth).

Honorardozentur für Mikrochemie an der Technischen Hochschule Wien (Dozent Dr. R. Strebinger).

Optische Instrumente nahmen im Rahmen der Ausstellung einen großen Raum ein. Die Firma C. Reichert, Wien,

hat *Mikroskope* verschiedenster Ausführung ausgestellt, darunter *Binokularmikroskope*, *Metallmikroskope*, die eine Betrachtung geschliffener Metalloberflächen bei größter Vergrößerung ermöglichen, und Mikroskope, welche polarisiertes, bezw. ultraviolettes Licht als Lichtquelle verwenden. Das von Haitinger und Reichert konstruierte *Fluoreszenzmikroskop*, das für mikrochemische und mikrobiologische Zwecke von besonderer Bedeutung ist, fand allgemein ganz besonderes Interesse.

Die bekannten Zeiss-Mikroskope waren ebenfalls in mehreren Modellen vertreten. Die Firma C. Zeiss stellte ein äußerst präzises Instrument, das *Stufenphotometer*, aus, welches als

Kolorimeter und *Nephelometer* ohne Vergleichslösung verwendet werden kann, ferner einen handlichen *Gitterspektrographen*, ein äußerst empfindliches *Galvanometer* und anderes mehr.

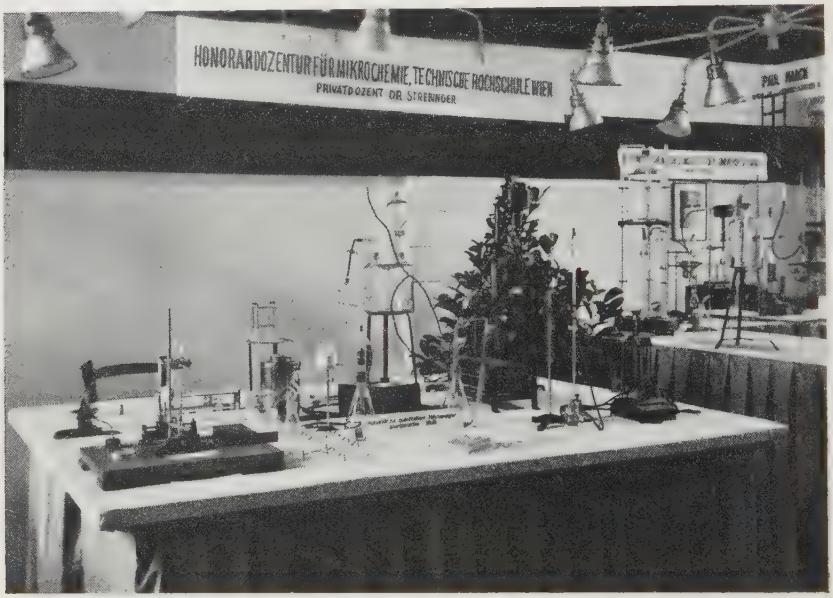
Die *Waage*, das wichtigste Instrument des quantitativen Analytikers, wurde sowohl als Vorwaage wie auch als Makro- und Mikrowaage von den Firmen KUHLMANN, Hamburg, SARTORIUS, Göttingen, STARKE & KAMMERER, Wien, zur Schau gestellt. Als Neuerung sei die Vorwaage von STARKE & KAMMERER erwähnt,

die bei einer Belastung von 120 g noch 0,01 g direkt abzulesen gestattet.

Die Firma PAUL HAACK, Wien, hat eine äußerst reichhaltige Zusammenstellung von *Geräten für die quantitative anorganische und organische Mikroanalyse* gebracht. Es wurden zum Teil erst in neuester Zeit konstruierte Apparate für die Bestimmung von Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Azetylgruppen usw. nach PREGL, LIEB und FRIEDRICH ausgestellt.

Eine komplette Zusammenstellung aller für die Ausführung qualitativer und quantitativer anorganischer Analysen benötigten

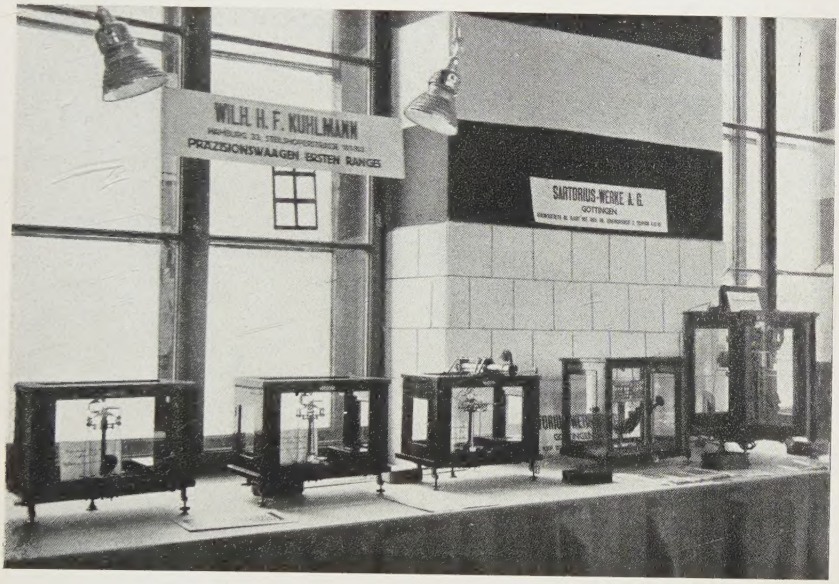
Behelfe nach Emich war in zwei von dem Mechaniker Schmidt, Graz, nach Angabe von Benedetti-Pichler hergestellten Handkoffern zu sehen, die eine außergewöhnlich praktische Ausnutzung des Raumes beim Transport der subtilsten Behelfe ermöglichen. Von der Technischen Hochschule in Wien (Dozent Dr. Strebinger) wurden verschiedene Apparate und neuartige *Behelfe zur quantitativen anorganischen Mikroanalyse* gezeigt.



F. M. Lautenschläger, München, hat außer dem bekannten *Folienkolorimeter* nach Wulff und dem *Mikroionometer* als Neuheit ein *Nephelometer* nach Hahn sowie Behelfe zur *Tüpfelanalyse* nach Feigl ausgestellt. Auch bei der Firma Haack war eine Zusammenstellung sämtlicher hierfür benötigter Geräte zu besichtigen.

Apparate zur Bestimmung von Halogen und Schwefel in Brennstoffen, welche in den Laboratorien der I. G. Farbenindustrie A. G., Oppau, verwendet werden, zeigten, daß die Mikroanalyse auch in der T e c h n i k Eingang gefunden hat.

Von der Firma Dr. Albert Veit, Wien wurde ausgestellt: *Elektrischer Mikroverbrennungsofen, elektrische Mikrosublimationsplatte* sowie diverse *Quarzgeräte*, Erzeugnisse der Firma W. C. Heraeus, G. m. b. H., Hanau, *Mikrowaage* mit Glasschutz des Waagebalkens sowie eine *analytische Waage mit Luftdämpfung, Auflegung der Bruchgewichte von außen und Projektionsablesung der Zungenschwingungen*, Erzeugnisse der Sartorius-Werke A. G., Göttingen, *Kleine rotierende Ölluftpumpe*, Fabrikat Leybold, Köln, *Potentiometer nach Dr. Uhl* für die Ph-Bestimmung,

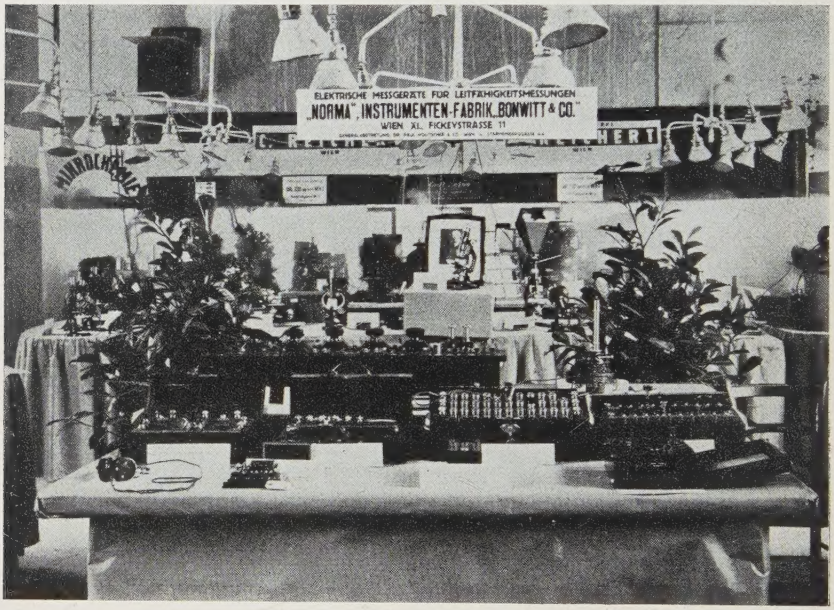


Fabrikat Dr. A. Veit, Wien, *Polarograph nach* Heyrovsky-Shikata zur registrierenden Messung geringster gelöster Substanzmengen, z. B. Metallen im Wasser, Eiweiß im Harn, Fabrikat Dr. Nejedlý, Prag, *Normalschliffgeräte* (Din-Denog).

Die Norma-Instrumentenfabrik Bonwitt & Co., Wien, war in der bekannt präzisen Ausführung von Meßbrücken mit vor Licht und Staub geschützten *Kurbelkontakten für Leitfähigkeitsuntersuchungen, zur Ph-Bestimmung sowie Widerständen, Galvanometern und Millivoltmetern* für Temperaturmessungen vertreten.

Die *Analysenquarzlampe* der QUARZLAMPENGESELLSCHAFT, Hanau a. M. und Linz a. d. D., die neuerdings als wichtiges Hilfsmittel in der Technik angewendet wird und für Zwecke der Reinheitsprüfung mikrochemische Bedeutung besitzt, war gleichfalls in der Ausstellung zu sehen.

Es seien ferner die *Glasfiltergeräte* der JENAER GLASWERKE SCHOTT & GEN. sowie *Porzellangeräte* der BERLINER PORZELLAN-MANUFAKTUR erwähnt. Die Firma Dr. SIEBERT & KÜHN,



Kassel, zeigte eine Reihe *genormter Thermometer* sowie *Beckmann-Thermometer* in verschiedener Ausführung.

Von der chemischen Fabrik E. DE HAEN, Seelze, wurde eine *Zusammenstellung reinster Reagenzien*, welche als begrüßenswerte Einführung die Angabe der Maximalverunreinigungen enthalten, sowie diverse Fixanalröhrchen ausgestellt.

Zu erwähnen wäre noch ein *Mikrogaskalorimeter* nach LÖFFLER, Laboratorium für Brennstoffuntersuchungen in Wien.

Schließlich sei auf die *Buchausstellung* hingewiesen, in der alle literarischen Erscheinungen über Mikrochemie ausgelegt waren.

Die in Wien erscheinende Zeitschrift MIKROCHEMIE (Verlag Emil Haim & Co.) hat anläßlich der Tagung des Vereines Deutscher Chemiker ein besonderes *Kongreßheft* mit zahlreichen Beiträgen erscheinen lassen.

Diese *erste* Mikrochemie-Ausstellung hat so viel geboten, daß

eine vollständige Aufzählung fast unmöglich erscheint. Die Ausstellung hat allenthalben größtes Interesse hervorgerufen, und dieses läßt erwarten, daß mikrochemische Ausstellungen auf wissenschaftlichen Tagungen auch weiterhin den ihnen gebührenden Platz einnehmen werden.

Die Jahrgänge I—VI (1923—1928) der Zeitschrift „Mikrochemie" liegen vollständig vor (teilweise im Neudruck) und können zum Preise von je Rm. 21.— bezogen werden. Ausnahmsweise werden auch Einzelhefte abgegeben. Preise auf Anfrage.

TÜPFELREAKTIONEN

Sammelreferat

von F. FEIGL (Wien)

Mit einer farbigen Tafel

(Separatabdruck aus **Mikrochemie** VIII [1930], 356—374)

Preis: *RM* 1.80

SACHREGISTER:

über

MIKROCHEMIE I-VIII (1923-1930)
PREGL-FESTSCHRIFT (1929)
EMICH-FESTSCHRIFT (1930)
Beiheft: **RÖNTGENOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN** (1930)

Preis: *RM* 4.—